

LICHTMIKROSKOPISCHE,
ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN
UND
LEKTINBINDUNGSSTELLENNACHWEIS
AN DER NEBENNIERE
DER JAPANISCHEN WACHTEL
(COTURNIX COTURNIX JAPONICA)

Martin Schweizer

Disbui. München

1987

Aus dem
Institut für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. F. Sinowatz

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. F. Sinowatz

**LICHTMIKROSKOPISCHE, ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTER-
SUCHUNGEN UND LEKTINBINDUNGSSTELLENNACHWEIS AN DER NEBEN-
NIERE DER JAPANISCHEN WACHTEL (COTURNIX COTURNIX JAPONICA)**

Inaugural Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität

von

Martin Schwelzer

aus

Feuchtwangen/Bayern

München 1987

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München**

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. F. Sinowatz

Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr. habil. H. Gerlach

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

4. Einleitung

4.1. Einleitung

1. Begründung
2. Darstellung
3. Bedeutung der Untersuchung
4. Lage
5. Form
6. Zielsetzung
7. Aufbau
8. Ergebnisse der Untersuchung

MEINEN ELTERN

- 1.1. Einleitung
- 1.1.1. Lebensgeschichte
- 1.1.2. Herkunft
- 1.1.3. Ausbildung
- 1.1.4. Ehepartnerin
- 1.2. Arbeitsleben
- 1.2.1. Lebensgeschichte
- 1.2.2. Herkunft
- 1.2.3. Ausbildung
- 1.2.4. Ehepartnerin
- 1.3. Arbeitsleben
- 1.3.1. Lebensgeschichte
- 1.3.2. Herkunft
- 1.3.3. Ausbildung
- 1.3.4. Ehepartnerin
- 1.4. Arbeitsleben
- 1.4.1. Lebensgeschichte
- 1.4.2. Herkunft
- 1.4.3. Ausbildung
- 1.4.4. Ehepartnerin
- 1.5. Arbeitsleben
- 1.5.1. Lebensgeschichte
- 1.5.2. Herkunft
- 1.5.3. Ausbildung
- 1.5.4. Ehepartnerin

INHALTSVERZEICHNIS

A. Einleitung

B. Literaturverzeichnis

1. Phylogenese
2. Ontogenese
3. Anatomie der Nebenniere
 - 3.1. Lage
 - 3.2. Form
 - 3.3. Gefäßversorgung
 - 3.4. Nervenversorgung
 - 3.5. Morphologie der Nebenniere
 - 3.5.1. Interrenalkörper
 - 3.5.1.1. Lichtmikroskopie
 - 3.5.1.2. Histochemie
 - 3.5.1.3. Ultrastruktur
 - 3.5.1.4. Experimentelle Untersuchungen
 - 3.5.2. Adrenalkörper
 - 3.5.2.1. Lichtmikroskopie
 - 3.5.2.2. Histochemische Untersuchungen
 - 3.5.2.3. Elektronenmikroskopie
 4. Physiologie der Nebenniere
 - 4.1. Nebennierenrinde
 - 4.1.1. Nebennierenrindenhormone
 - 4.1.2. Bedeutung der Nebennierenrindenhormone
 - 4.2. Nebennierenmark
 - 4.2.1. Nebennierenmarkhormone
 - 4.2.2. Biosynthese

- 4.2.3. Regulation der Adrenalin- und Noradrenalinfreisetzung
- 4.2.4. Bedeutung der Nebennierenmarkhormone
5. Lektine
 - 5.1. Geschichte der Lektine
 - 5.2. Molekulare Eigenschaften
 - 5.3. Lektinisolierung
 - 5.4. Einteilung der Lektine
 - 5.5. Biologische Bedeutung der Lektine
 - 5.6. Einsatz von Lektinen

C. Material und Methode

1. Untersuchungsmaterial
2. Materialentnahme
3. Histologische Untersuchungsmethoden
 - 3.1. Lichtmikroskopie
 - 3.1.1. Konventionelle Lichtmikroskopie
 - 3.1.2. Lektinbindungsstellennachweis
 - 3.2. Transmissionselektronenmikroskopie
 - 3.2.1. Semidünnschnitt
 - 3.2.2. Ultradünnschnitt
 - 3.3. Rasterelektronenmikroskopie

D. Eigene Ergebnisse

1. Lichtmikroskopie
 - 1.1. Konventionelle Färbungen
 - 1.2. Nachweis von Lektinbindungsstellen
 - 1.2.1. FITC konjugierte Lektine
 - 1.2.2. HRP konjugierte Lektine
 - 1.3. Semidünnschnitt
2. Elektronenmikroskopie

- 2.1. Transmissionselektronenmikroskopie
 - 2.1.1. Interrenalkörper
 - 2.1.2. Adrenalkörper
 - 2.1.3. Kapillaren
- 2.2. Rasterelektronenmikroskopie
- 3. Bilddokumentation

E. Diskussion

F. Zusammenfassung

G. Summary

H. Literaturverzeichnis

Einführung

Die Nebenniere wurde bereits bei mehreren Vogelarten sowohl licht- als auch elektronenmikroskopisch untersucht. Meist sind die Autoren bemüht, die morphologischen Befunde mit der physiologischen Funktion dieses Organs in Verbindung zu bringen oder mit den bei den Säugetieren bekannten Gegebenheiten zu vergleichen.

Lichtmikroskopische Beschreibungen dieses Organs liegen von verschiedenen Untersuchern vor. In elektronenmikroskopischen Arbeiten wurde die Ultrastruktur der den Nebennierenrinenzellen der Säuger entsprechenden Interrenalzellen und der den Nebennierenmarkzellen entsprechenden Adrenalzellen beschrieben.

In den letzten Jahren haben die Lektine durch ihre spezifische Bindungsfähigkeit Eingang in die Histologie gefunden.

Neben einer licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung der Nebenniere der japanischen Wachtel soll deshalb in dieser Arbeit geprüft werden, ob, und wenn ja, für welche Lektine, es Bindungsstellen in diesem Organ gibt.



Literaturübersicht

1. Phylogenese

Die Nebenniere findet in der vergleichenden Anatomie und Histologie besonderes Interesse, da sich in ihr ähnlich wie in der Hypophyse epitheliales Gewebe mesodermalen Ursprungs (Nebennierenrindengewebe) mit einem ektodermalen Abkömmling des Nervensystems (Nebennierenmarkgewebe) verbindet.

Diese verschiedenen Anteile der Nebenniere treten bei den Fischen noch getrennt auf. Bei den Amphibien und Reptilien lagern sie sich aneinander und bei den Vögeln durchdringen sie sich gegenseitig. Erst bei den Säugetieren umschließt das Nebennierenrindengewebe das Mark kapselartig und bildet die Rinde des nun einheitlichen, durch einen gemeinsamen Gefäßapparat versorgten Organs.

2. Ontogenese

Die Nebennierenrinden- oder Interrenalzellen entstehen aus einer Proliferation des Zölomepithels, die sich von der Oberfläche der Leibeshöhlenwand ablöst und in das retroperitoneale Bindegewebe einrückt. Sympathische Zellen aus dem primären und sekundären sympathischen Strang wandern als sympathische, ganglionäre und nicht ganglionäre Zellen in die Zellhaufen des Interrenalkörpers ein (Venzke, 1953). Dort differenzieren sie sich zu den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarkes. Sivaram (1968) konnte bei Küken zeigen, daß Adrenalin und Noradrenalin ab dem 11. Tag der Bebrütung von

den chromaffinen Zellen gebildet werden.

Die Zellen des Interrenalkörpers beginnen ihre sekretorische Aktivität bereits am 10. Tag der Bebrütung (Sivaram, 1968).

3. Anatomie der Nebennieren des Vogels

3.1. Lage

Die Nebennieren liegen beiderseits der Aorta unmittelbar kaudal der Lunge und kranial der Nieren. Dabei sind sie dem kranio-medialen Pol der Nieren und auf ihrer ventralen Seite den Gonaden eng verbunden, so daß sie bei der Präparation nicht immer ohne Substanzverlust von diesen zu lösen sind. Ihre Ventralfläche befindet sich kranial der Bifurkation der Vena cava caudalis. Der Abstand zwischen beiden Nebennieren kann bei Vögeln sehr stark variieren. Bei einigen nordamerikanischen Vogelarten sind die beiden Nebennieren miteinander verschmolzen (Hartman und Brownell, 1949). Bei anderen Arten kann eine Verschmelzung bei einzelnen Individuen auftreten.

3.2. Form

Größe und Form der Nebennieren können innerhalb einer Art und zwischen einzelnen Arten sehr unterschiedlich sein. So kann die Form zwischen nahezu rund oder oval bis länglich oder pyramidenförmig variieren. Bei den Haustierarten Huhn, Taube und Gans zeigt die Nebenniere gewöhnlich eine längliche Form. Müller (1929) beschreibt beim Huhn die rechte Nebenniere als nach kaudal gerichtete, dreiseitige Pyramide, während er die linke Neben-

niere als länglich bis ovoid darstellt.

Bei adulten Hühnern wurde die Größe der Nebennieren ebenfalls von Müller (1929) beschrieben. Sie ist beim Huhn 13 mm lang, 8 mm breit und 4,5 mm dick. Entsprechende Messungen bei der erwachsenen Ente ergaben $7 \times 4,5 \times 3,5$ mm (Cronshaw et al., 1974). Beim Wellensittich ist die Nebenniere 2 mm lang und 0,5 mm dick (Feder, 1971).

Studien, die das Gewicht der Nebennieren betreffen wurden von Hartman und Brownell (1949) und Holmes und Phillips (1976) angeführt. So scheint der braune Pelikan mit einem relativen Gewicht der Nebennieren von 0,04% des Körpergewichts die relativ schwersten Nebennieren zu besitzen (Hartman und Brownell, 1949). Das Gewicht der Nebennieren hängt sehr stark von Faktoren wie Geschlecht, Alter, Stress, Jahreszeit und Umweltfaktoren ab. Hartman und Brownell (1949) zeigen ebenso wie Holmes und Phillips (1976), daß bei Wasservögeln die Meeresvögel ein höheres relatives Gewicht der Nebennieren besitzen als die Süßwasservögel. Brackwasservögel liegen zwischen diesen beiden Gruppen. Die Farbe der Nebennieren scheint von Fett und Blutgehalt abhängig zu sein. Die Angaben schwanken von grauweiß über gelb bis rötlich.

3.3. Gefäßversorgung

Die Blutversorgung wurde vor allem beim Huhn genauer untersucht (Hays, 1914; Goodchild, 1969). Haack et al. (1972) sowie Varvella et al. (1983) beschreiben die Gefäßversorgung bei der Ente. Knouff und Hartman (1951) gehen auf die komplizierten Verhältnisse beim Pelikan ein. Über andere Vogelarten ist relativ wenig bekannt.

Nach Hays (1914) wird die ventrale Seite der Nebenniere über zwei Äste der

A. adrenalis versorgt. Diese entspringt aus der A. renalis cranialis. Die dorsale Seite wird von einer weiteren kleinen Arterie versorgt, die bei der linken Nebenniere direkt aus der Aorta und bei der rechten Nebenniere aus der A. renalis cranialis stammt. Innerhalb der bindegewebigen Kapsel bilden die Arterien Verzweigungen, von denen das Blut über sinusoide Kapillaren in das Organinnere fließt. Mehrere große venöse Sinus sammeln das Blut in einer oder mehreren großen zentralen Venen (Sivaram, 1965). Nach Hays (1914) wird die Nebenniere von einer V. adrenalis drainiert, die entweder in die V. iliaca communis an deren Übergang zur V. cava caudalis oder direkt in die V. cava caudalis (Goodchild, 1969) fließt.

Umstritten sind die Portalvenen, Venae adrenales portales, die die Nebennieren des Huhnes nach Goodchild (1969) zusätzlich versorgen sollen. Diese beziehen ihr Blut aus der Muskulatur der Flanke in der Höhe der sechsten Rippe und ziehen von dort zu den Nebennieren. Leroy (1956) konnte dieses portale System nicht nachweisen.

Bei der Ente werden beide Nebennieren von kurzen A. adrenales, die direkt aus der Aorta stammen, versorgt. Im Innern der Nebenniere bilden große zentrale Venen Anastomosen aus und vereinigen sich so zu einer gemeinsamen V. adrenal (Haack et al., 1972).

Varvella et al. (1983) beschreiben bei der Ente ein oberflächliches und ein tiefes Venensystem. Dabei stehen beide miteinander in Verbindung und bilden ein sinusoidales Netzwerk. Während das tiefe Venensystem als V. adrenal in die V. cava caudalis mündet, wird das oberflächliche Venensystem als afferentes portales System angesehen, das mit dem vorletzten Intercostrakraum und der Flankenregion in Verbindung steht.

Bei den Arterien unterscheiden Varvella et al. (1983) ebenfalls ein oberflächliches und ein tiefes System. Das oberflächliche System besteht aus der A. adrenal superficialis. Diese stammt beim männlichen Tier aus der A. testicularis und beim weiblichen Tier direkt aus der Aorta. Wenn es die Ne-

benniere erreicht, bildet es zunächst ein oberflächliches Netz, bevor es in das Innere des Organs übergeht. Die beiden Gefäße des tiefen Systems, die unmittelbar aus der Aorta stammen, ziehen direkt in das Parenchym.

Die komplizierten Verhältnisse beim Pelikan werden von Knouff und Hartman (1951) geschildert.

3.4. Nervenversorgung

Jede Nebenniere ist von einer Bindegewebskapsel, einem Nervenfaserverplexus und zahlreichen Ganglienzellen umgeben. Diese bilden am kranialen und kaudalen Pol der Nebenniere zwei große Ganglien aus, das kraniale und das kaudale Nebennierenganglion (Freedman, 1968). Ein drittes Ganglion wurde von Hsieh (1951) beobachtet. Diese Ganglien enthalten präganglionäre Fasern von den thorakalen sympathischen Ganglien 5, 6 und 7, von den lumbosakralen Ganglien 1 und 2, sowie vom plexus coeliacus (Freedman, 1968). Von diesen Ganglien werden die Nebennieren, aber auch teilweise die Gonaden und die Nieren mit postganglionären Fasern versorgt (Baumel, 1965).

Die Innervation des Parenchyms wurde vor allem von Unsicker (1973 b, 1973 c, 1973 e) sehr genau untersucht. Große Nervenbündel, die vor allem aus Fasern ohne Myelinscheide bestehen, dringen in das Organinnere und versorgen vor allem die Zellen der Nebennierenmarkzellen mit cholinergen, adrenergen und p Typ Fasern. Eine cholinerge Nervenfasern kann mit bis zu drei Markzellen Synapsen ausbilden (Unsicker, 1973 b, 1973 c). Die Zellhaufen der Interrenalzellen werden nur spärlich mit cholinergen und p Typ Fasern versorgt. Adrenerge Fasern werden nur außerhalb der Basallamina der Interrenalzellen angetroffen (Unsicker, 1973 e).

3.5. Morphologie der Nebenniere

Die Nebenniere setzt sich aus chromaffinem Mark und nicht chromaffinen Nebennierenrindenzellen zusammen. Die Nebenniere ist nicht wie beim Säuger in Mark und Rinde gegliedert, sondern Adrenal- und Interrenalzellen liegen ineinander verwoben vor. Die Zellgruppen sind jeweils von einer Basalmembran umgeben. Müller (1929) bezeichnet sie als Adrenalkörper (Mark) bzw. als Interrenalkörper (Rinde). Sie können durch ihre unterschiedliche Anfärbbarkeit mit Chrom, Toluidinblau, Silber oder Fettfarbstoffen unterschieden werden. Die zum Interrenalkörper gehörenden Abschnitte werden Hauptstränge genannt, während die vom Adrenalkörper stammenden Teile als Zwischenstrangzellen bezeichnet werden. Von der bindegewebigen Kapsel führen Septen, die Kapillaren enthalten, in das Innere des Organs.

Unmittelbar unter der Kapsel befindet sich eine schmale, einschichtige, häufig unterbrochene Schicht chromaffiner Zellen, so daß die Interrenalzellen kaum direkt mit der Kapsel in Kontakt kommen. Im Parenchym oder in der Kapsel können größere Ansammlungen von Ganglienzellen vorkommen. Unter der Organoberfläche sind sie von einer eigenen Bindegewebskapsel umgeben. Sie können mit Chromalaun, Hämatoxylin-Phloxin und Azanfärbung dargestellt werden (Unsicker, 1973 a). Dabei unterscheidet Unsicker zwischen 30 - 60 µm großen runden Ganglienzellen, die sympathischen Nervenzellen ähneln, und kleineren (20 µm), unregelmäßig geformten Ganglienzellen mit einem niedrigen Kern-Cytoplasma Verhältnis.

3.5.1. Interrenalkörper

3.5.1.1. Lichtmikroskopie

Die Hauptstränge des Interrenalkörpers bestehen im Längsschnitt aus zwei sich gegenüberliegenden Zellreihen. Die Zellen sind kubisch bis hochprismatisch. Im Querschnitt nehmen sie die Form von Rosetten an. Dadurch werden die Hauptstränge Drüsenschläuchen ähnlich. Die Hauptstränge werden von einer Basalmembran umgeben. Diese Anordnung tritt vor allem im inneren Bereich der Nebenniere auf. Zur Peripherie hin kann es bei vielen Vogelarten zu einer Knäuelbildung kommen, so daß das Erscheinungsbild der exokrinen tubulären Drüsenstruktur im subcapsulären Bereich dem eines mehr oder weniger ungeordneten Zellhaufen weicht.

Die Knäuelbildung der peripheren Zone ist bei den verschiedenen Vogelarten unterschiedlich stark ausgebildet. Daher unterscheiden Bhattacharyya et al. (1972) in einer vergleichenden Untersuchung sechs verschiedene Grade der Differenzierung in innere und subcapsuläre Zone. Die subcapsuläre und die innere Zone der Vogelnebenniere entsprechen lichtmikroskopisch der Zona glomerulosa und der Zona fascicularis der Nebennierenrinde der Säuger. Die Differenzierung ist je nach Art unterschiedlich stark ausgeprägt. Sie ist bei den untersuchten Arten am deutlichsten bei Flamingo und Wellensittich ausgebildet, weniger stark, aber doch sehr ausgeprägt bei der Wachtel, kaum erkennbar bei der Taube und nicht vorhanden beim Hühnerküken (Bhattacharyya et al., 1972).

Dies deckt sich mit den von Feder (1971) beim Wellensittich und von Müller (1929) bei Huhn und Taube erhobenen Befunden. Müller (1929) berichtet, daß die Differenzierung der beiden Zonen vom Alter abhängig ist, so daß die nicht differenzierte Nebenniere des Kükens beim Huhn deutlich gegliedert ist.

Eine Ausnahme unter den Vogelarten stellt der braune Pelikan dar. Bei diesem werden von den Zellen des Interrenalkörpers ähnlich wie in der Nebennierenrinde der Säuger drei verschiedene Zonen gebildet (Knouff und Hartman, 1951).

3.5.1.2. Histochemie

Sinha (1961) weist bei der Taube histochemisch in der inneren Zone mehr Cholesterol, Corticoide, Ascorbinsäure, alkalische Phosphatase und saure Phosphatase nach, während die subcapsuläre Zone mehr sudanophile Lipide enthält. Nukleinsäuren und in geringen Mengen PAS positive Substanzen waren in beiden Regionen in gleicher Weise enthalten.

In einer weiteren Arbeit wurden von Ghosh (1962) 11 Vogelarten auf ihre Verteilung von Lipiden und Phosphatasen in den Zellen des Interrenalkörpers untersucht. Dabei zeigte sich, daß bei sieben dieser Vogelarten eine Unterscheidung zwischen subcapsulärer und innerer Zone durch mindestens einen Parameter möglich war, während bei vier Vogelarten alle Reaktionen gleich verliefen.

3.5.1.3. Ultrastruktur

Die Ultrastruktur der Hauptstrangzellen wurde beim Huhn von Fujita (1961), Kondics und Kjaerheim (1966) und Kjaerheim (1968 a, 1968 b), bei der Ente von Haack et al. (1972), Cronshaw et al. (1974) sowie Pearce et al. (1977, 1978) beschrieben. Bei der Taube und der Wachtel wurde der Interrenalkörper der Nebennieren durch Bhattacharyya (1975), beim Pelikan durch Sheridan et al. (1963), bei der Möwe von Harrison (1965) und vergleichend bei 15 Vogelarten durch Unsicker (1973 d) mit dem Elektronenmikroskop untersucht.

Dabei zeigen die Zellen des Interrenalkörpers zahlreiche Fettvakuolen und Mitochondrien. Die Mitochondrien sind hauptsächlich vom Tubulustyp. Der Golgiapparat ist ausgeprägt und der Anteil des glatten ER überwiegt den des rauen ER deutlich. Ebenso kommen Microtubuli und Microfilamente vor. Fettvakuolen, Mitochondrien und glattes ER liegen in unmittelbarer Nachbarschaft und bilden eine funktionelle Einheit.

Kjaerheim (1968 a) und Unsicker (1973 d) berichten von einer polaren Anordnung der Organellen der Zellen des Interrenalkörpers. Nach Unsicker (1973 d) sitzt die Zelle mit ihrer basalen Seite der Basalmembran auf. Hier ist der größte Anteil der Mitochondrien, des glatten ER und der Lipidvakuolen gelegen, während der Golgiapparat am apikalen Pol der Zellen gelegen ist.

In mehreren Untersuchungen wurde versucht, die Frage zu klären, ob die von Alter, Tierart und physiologischen Bedingungen abhängige, lichtmikroskopisch wahrnehmbare Gliederung in eine subcapsuläre und innere Zone elektronenmikroskopisch bestätigt werden kann.

Dies wird von einigen Autoren (Unsicker, 1973 d; Kjaerheim, 1968 b; Fujita, 1961) bejaht, während anderen (Bhattacharyya, 1975; Cronshaw et al., 1974; Sheridan et al., 1963) dies nicht möglich ist.

Pearce et al. (1978) gelingt es bei der Ente (*Anas platyrhynchos*) nach

elektronenoptischen Untersuchungen an Nebennieren, bei denen eine Zonierung experimentell durch ACTH provoziert wurde, auch bei normal gehaltenen Tieren aufgrund der ultrastrukturellen Zellstruktur eine Unterscheidung zwischen den beiden Zonen vorzunehmen.

3.5.1.4. Experimentelle Untersuchungen

In zahlreichen Arbeiten wurde versucht die Zonierung der Zellen des Interrenalkörpers zu verstärken und die morphologische Differenzierung mit einer unterschiedlichen Funktion in Verbindung zu bringen. Dabei werden unterschiedliche Ergebnisse berichtet.

Kjaerheim (1968) beobachtet nach ACTH Applikation an den Zellen des Interrenalkörpers des Huhnes eine Verringerung der Lipidtröpfchen, eine höhere Dichte an Mitochondrien und eine Zunahme des glatten ER und der Zahl der Ribosomen. Kern und Kernkörperchen waren vergrößert, die Zahl der "nuclear bodies" stieg und am Nucleolus traten zahlreiche Vakuolen auf.

Durch Applikation von Dexamethason tritt beim Huhn eine Atrophie der Interrenalzellen auf (Kjaerheim 1968 b), die Zahl der Lipidtröpfchen steigt, das glatte ER ist vermindert, die Kerne schrumpfen, ihre Kernmembran verläuft unregelmäßig und die Nucleoli besitzen keine Vacuolen (Kjaerheim, 1968 b). Die Veränderungen traten bei den Versuchen in der gesamten Nebenniere auf.

Durch Bhattacharyya und Ghosh (1972) sowie durch Bhattacharyya et al. (1975) wurden die Auswirkungen einer ständigen Dexamethasonbehandlung und von Stress (1972) bzw. einer übermäßigen Salzversorgung (1975) auf die Nebenniere bei Wachtel, Sittich und Myna gegenübergestellt. Dabei wurde eine einheitliche Atrophie der gesamten Nebenniere nach Dexamethasongaben bzw. Hypertrophie im Stress oder bei übermäßiger Salzversorgung fest-

gestellt.

Eine deutliche Ausbildung einer Zonierung nach Hypophysektomie beschreiben dagegen Miller und Riddle (1942) bei der Taube und Wright et al. (1966) bei der Ente. So zeigen die Zellen der subcapsulären Zone nach Entfernung der Hypophyse keine morphologischen Veränderungen gegenüber Kontrolltieren. In der inneren Zone jedoch sind die Zellen kleiner, verfügen über weniger Cytoplasma und über mehr Fett als bei normalen Tieren. Der Übergang zwischen innerer und äußerer Zone ist abrupt. Diese Veränderungen treten bei der Mehrzahl der Tiere auf. Bei einigen wenigen kommt es auch im subcapsulären Bereich zu ähnlichen Befunden wie in der inneren Zone.

Bei Tieren, die mit einem Hypophysenextrakt behandelt wurden, kommt es zu einer Hypertrophie des Interrenalkörpers. Die Menge des Cytoplasmas und die Zahl der Mitochondrien ist erhöht, die Lipidvakuolen sind weniger und kleiner als bei normalen Tieren.

Haack (1972) beobachtete bei in 1% Salzwasser gehaltenen Enten ebenfalls eine deutliche Zonierung. Dabei treten vor allem in den größeren Zellen der peripheren Zone mehr Lipide, sowie eine höhere Aktivität der Succinatdehydrogenase, der Lactatdehydrogenase und der Malatdehydrogenase auf. Er betrachtet die äußere Zone als Steroid produzierende Zone, während er in der inneren Zone, in der mehr Mitosen auftreten, Stammzellen und reife Steroidzellen vermutet.

Auf diese Arbeiten aufbauend konnte gezeigt werden, daß sich in Abhängigkeit von ACTH die Zellen des Interrenalkörpers auch elektronenoptisch sicher nachweisbar in eine subcapsuläre (SCZ) und eine innere (IZ) Zone differenzieren (Holmes und Cronshaw, 1980). Bei der Ente, die unter physiologischen Bedingungen keine Differenzierung des Interrenalkörpers aufweist, konnte eine deutliche Zonierung hervorgerufen werden (Pearce et al. 1978). Die Zellen dieser Zonen zeigen in ihrer Ultrastruktur deutliche Unterschiede.

So besitzen die Zellen der IZ runde Zellkerne, viel glattes ER und Mitochondrien vom Tubulustyp. Zellen der SCZ enthalten pleomorphe Zellkerne, weniger glattes ER und Mitochondrien vom Cristatyp. Weitere Unterschiede werden beschrieben (Pearce et al., 1978).

Nach Adenohypophysektomie gleichen die Zellen der IZ denen der SCZ. Durch Gabe von ACTH wird das ursprüngliche Bild der IZ wieder erreicht. Diese Ergebnisse konnten in Versuchen mit Zellkulturen bestätigt werden. Dabei sind immer die Zellen der IZ, nicht die der SCZ betroffen (Pearce et al., 1979).

Die Dicke der SCZ besteht aus 20 - 40 Zellen (Holmes und Cronshaw, 1980).

Weiter wurde versucht, die morphologische Strukturierung mit einer unterschiedlichen Funktion dieser Zonen, das heißt mit der Bildung von Aldosteron im subcapsulären und mit der Bildung von Cortison im inneren Bereich in Verbindung zu bringen.

So konnten Klingbeil et al. (1979) zeigen, daß Zellkulturen aus der SCZ relativ mehr Aldosteron als solche der IZ bilden. Zellkulturen aus der IZ verfügen dagegen über einen 10 x höheren Cortison Aldosteron Quotienten als solche der SCZ.

Eine detaillierte Übersicht über diese Ergebnisse gibt die Arbeit von Holmes und Cronshaw (1980).

3.5.2. Adrenalkörper

3.5.2.1. Lichtmikroskopie

Die Zellen oder Zellhaufen des Adrenalkörpers liegen zwischen den Zellsträngen des Interrenalkörpers verstreut. Die Verteilung hängt weitgehend vom Anteil des Adrenalkörpers am Gesamtvolumen der Nebenniere ab. Wenn der Anteil des Adrenalkörpers gering ist, liegen sie wie beim Pelikan vereinzelt zwischen den Strängen des Interrenalkörpers (Hodges, 1979). Ist der Anteil höher, z. B. bei der Wachtel, so werden Zellhaufen gebildet, die ein Netzwerk bilden können.

Die Zellen des Adrenalkörpers liegen in unmittelbarer Nachbarschaft der Blutgefäße. Ihr großes, polygonales Cytoplasma färbt sich im Gegensatz zu dem der Zellen des Interrenalkörpers in der H. E. Färbung intensiv basophil an. Es ist mit vielen winzigen Granula gefüllt. Der Kern ist groß, rund und liegt in der Mitte der Zelle. Von den Zellen des Adrenalkörpers werden Adrenalin und Noradrenalin synthetisiert und gespeichert.

Ein Charakteristikum dieser Zellen ist ihre Anfärbbarkeit mit oxydierenden Substanzen. Nach Bennett (1941) wurde sie erstmals von Vulpian (1856) berichtet. Henle (1865) zeigte, daß sich die Zellen des Nebennierenmarkes nach Behandlung mit Chromsäure oder Kaliumbichromat dunkelbraun verfärben. Er bezeichnete diese Reaktion als chromaffine Reaktion. Eine der für diese Reaktion verantwortlichen Substanzen, das Adrenalin wurde von Aldrich (1901) und von Takamine (1901) isoliert. Erst sehr viel später, 1949, konnte das Noradrenalin nachgewiesen werden (Euler und Hamberg, 1949). In der folgenden Zeit wurde eine Vielzahl von Methoden entwickelt, um Adrenalin und Noradrenalin produzierende Zellen histologisch darstellen zu können.

So wurden beispielsweise von Unsicker (1973 a) durch routinemäßige Färbung von Semidünnschnitten mit Methylenblau nach Richardson Adrenalin und Noradrenalin produzierende Zellen bei 15 Vogelarten nachgewiesen.

Dasselbe kann erreicht werden durch Färbung von Semidünnschnitten mit Methylenblau (Chungsamarnyart et al., 1981) oder durch eine modifizierte Färbung nach Wood (Ghosh, 1980). Dutta und Ghosh (1964) färben mit der Jod-Methodenach Hillarp und Hökfelt noradrenalinhaltige Zellen selektiv bei 9 verschiedenen Vogelarten.

3.5.2.2. Histochemische Untersuchungen

In einer vergleichenden Untersuchung wurden bei 21 Vogelarten (Ghosh-1977) saure Phosphatase, Plasmalogen und metachromatische Substanzen als Bestandteil des basophilen Cytoplasmas der Zellen des Adrenalkörpers ermittelt. Die Untersuchungen über das Vorkommen von Mucopolysacchariden verliefen unterschiedlich.

Das Cytoplasma der Adrenalzellen der Schnepfe enthält zwei Haupttypen an Mucopolysacchariden: ein PAS positives, neutrales Polysaccharid und ein schwach saures, schwefelhaltiges Mucin. Stark saure Mucopolysaccharide, Sialinsäure und Hyaluronsäure sollen im Adrenalkörper dieser Vogelart nicht vorkommen (aus Ghosh, 1980).

Narasimham und Kamat (1970) untersuchten die Nebenniere des Spatzen (*Passer domesticus*) und der Taube (*Columba livia*) histochemisch. Sie fanden bei der Taube eine zarte Anfärbung des Cytoplasmas sowie eine starke Färbung der Basalmembran mit Alcianblau pH 2,5, während beim Spatz das Cytoplasma stärker gefärbt war, ohne daß eine Färbung der Basalmembran auftrat. Die PAS Färbung zeigte beim Spatz im Cytoplasma der chromaffinen Zellen eine deutliche Reaktion, bei der Taube jedoch verfärbte sie hauptsächlich die Basalmembran.

Ray und Ghosh (1961) berichten, daß die PAS Reaktion bei der Taube sehr deutlich die Basalmembranen darstellt, das Cytoplasma dagegen nicht reagiert. Glykogen konnten die beiden Autoren nicht nachweisen.

Beim Huhn verfärben sich die chromaffinen Zellen metachromatisch mit Toluidinblau (Sivaram, 1964). Der Autor führt die Metachromasie auf Phosphorsäureradikale zurück, da die chromaffinen Zellen PAS negativ reagieren und die Metachromasie durch Zusatz von Mg_2Cl aufgehoben werden kann.

3.5.2.3. Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskopische Studien wurden von Kano (1959), Fujita und Machino (1963) und Chungsamarnjart et al. (1981) beim Huhn, von Cuello (1970) beim Pinguin (*Pygoscelis papua*), von Cronshaw et al. (1974) bei der Ente, von Guzsai und Hassan (1975) bei der Gans und bei der Ente und von Unsicker (1973 a) vergleichend bei 15 Vogelarten durchgeführt.

Im Gegensatz zu den Zellen des Interrenalkörpers enthalten die Zellen des Adrenalkörpers sehr wenig Fetttropfen, wenig glattes endoplasmatisches Retikulum und relativ wenig Mitochondrien. Ihr augenfälligstes Charakteristikum im elektronenmikroskopischen Bild ist eine Vielzahl von membranumhüllten neurosekretorischen Granula. Zwischen den Adrenalin und Noradrenalin enthaltenden Granula werden Unterschiede beschrieben (Cuello, 1970; Unsicker, 1973 a; Guzsai und Hassan, 1975; Chungsamarnjart et al., 1981).

Der mittlere Durchmesser der Adrenalin-Granula beträgt nach Ghosh (1977) 168 nm. Der osmiophile Kern ist von mittlerer Dichte und füllt die ihn umgebende Membran völlig aus. Der Kern besteht aus feingekörntem Material. Im Gegensatz dazu zeigen die Noradrenalin-Granula einen Durchmesser von 224 nm (Ghosh, 1977). Ihr dichter granulärer Kern wird von einem deutlichen

Hof umgeben. Er besteht aus großen, runden Untereinheiten, seine Form ist rund bis kommaförmig.

Davon abweichende Befunde erwähnen Cronshaw (1974) und Ghosh (1980).

So gelingt es Cronshaw bei seinen Untersuchungen an der Pekingente nicht, zwischen Adrenalin und Noradrenalin produzierenden Zellen zu unterscheiden. Ghosh (1980) berichtet, daß die Zellhaufen des Adrenalkörpers bei Taube und Kuckuck am Rand Adrenalin und in ihrem Zentrum Noradrenalin produzieren. Einige Zellen sollen beide Hormone bilden.

4. Physiologie der Nebenniere

4.1. Nebennierenrinde

4.1.1. Nebennierenrindenhormone

Das Hauptsekretionsprodukt des Interrenalkörpers der Vögel ist das Corticosteron. Zusätzlich wird in geringerem Maß noch Aldosteron produziert.

Andere Corticosteroide wie Cortisol, Cortison, Androstendion oder Testosteron werden teilweise während der Embryonalzeit synthetisiert. Nach dem Schlüpfen wird ihre Produktion und Freisetzung jedoch eingestellt, so daß ab diesem Zeitraum nur Corticosteron und Aldosteron physiologisch von Bedeutung sind (Kalliecharan und Hall, 1974).

Für den Sekretionsvorgang sind die Microtubuli, aber nicht die Microfilamente erforderlich (Cronshaw et al., 1984).

4.1.2. Bedeutung der Nebennierenrindenhormone

Corticosteron

Schwankungen des Corticosterongehaltes bei Vögeln werden mit Veränderungen des Stoffwechsels, der Immunabwehr und des Verhaltens in Verbindung gebracht.

So wird bei Vögeln das Körpergewicht durch Corticosteron deutlich reduziert (Gross et al., 1980). Dies kommt durch einen Abbau des Muskelproteins zustande, der von einer Zunahme des Fettdepots und einer verstärkten Gluconeogenese begleitet wird. Dies führt zu einer Erhöhung der Plasmaglukose, des Leberglykogens und des Depotfettes bei gleichzeitigem Proteinabbau.

Durch Gaben von Corticosteron oder ACTH bzw. bei Stress sinkt die Zahl der Lymphozyten, während der Anteil der Granulocyten steigt (Gross et al., 1980). Dies hat eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber viralen Infektionen zur Folge. Für bakterielle Erkrankungen wird eine erhöhte Resistenz vermutet (Harvey et al., 1986).

Einflüsse der Zellen des Interrenalkörpers auf Rangordnung und Sexualverhalten werden auf zentralnervöse Effekte von Corticotropinreleasingfaktor, ACTH, oder Corticosteron auf die Hypothalamus Hypophysenachse zurückgeführt (Harvey et al., 1986).

Aldosteron

Der Elektrolytstoffwechsel wird in erster Linie durch Aldosteron reguliert. Daneben besitzt auch Corticosteron eine gewisse Wirksamkeit. Aldosteron wirkt auf den Wasser- und Elektrolythaushalt. Es hemmt die Na^+ Ausscheidung der Niere und führt zu einer Absorption von Salz und Wasser am Dün-

darm (Holmes und Phillips, 1976). Bei Seevögeln wird die Na^+ Ausscheidung zusätzlich durch die Exkretion über die ausgeprägten nasalen Salzdrüsen ermöglicht.

4.2. Nebennierenmark

4.2.1. Nebennierenmarkhormone

In den Zellen des Adrenalkörpers wurden bei Vögeln die Hormone Adrenalin und Noradrenalin nachgewiesen.

4.2.2. Biosynthese

Chemisch handelt es sich bei den Hormonen des Nebennierenmarkes um biogene Amine.

Ausgangspunkt der Synthese ist die Aminosäure Tyrosin. Durch Hydroxylierung und Decarboxylierung werden die Zwischenstufen Dopa und Dopamin hergestellt. Durch Hydroxylierung des Dopamins entsteht als Produkt das Noradrenalin. In Zellen, die über das Enzym Phenylethanolamin-N-Methyl-Transferase (PNMT) verfügen, wird das Noradrenalin durch Methylierung in Adrenalin umgewandelt. Die biosynthetischen Schritte bis zur Bildung des Dopamin werden im Cytoplasma durchgeführt, während die Hydroxylierung des Dopamin zu Noradrenalin in den Granula stattfindet. Adrenalin und Noradrenalin werden in den membranumhüllten Granula bis zur Sekretion gespeichert.

4.2.3.Regulation der Adrenalin und Noradrenalinfreisetzung

Für die Synthese und Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin bei Vögeln werden die Innervation, Hormone und Blutfaktoren verantwortlich gemacht.

Die Zellen des Adrenalkörpers werden durch cholinerge, adrenerge und p-Typ Fasern versorgt (Unsicker, 1973 b; 1973 c). Dabei kann eine cholinerge Faser Synapsen mit bis zu drei Adrenalin oder Noradrenalin enthaltenden Zellen gleichzeitig ausbilden (Unsicker, 1973 b).

Zusätzlich werden die chromaffinen Zellen von Blutfaktoren und Hormonen beeinflusst. So stimulieren Nebennierenrindenhormone die Synthese und Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin bei Vögeln. ACTH stimuliert die Adrenalin und Noradrenalinfreisetzung (Gösh, 1980). Es wirkt indirekt über Corticosteron, das die Aktivität der PNMT steigert, und somit die Umwandlung von Noradrenalin zu Adrenalin beeinflusst (Wassermann und Bernard, 1971; Zachariasen und Newcomer, 1974). Mit dem Alter der Tiere wächst der Anteil an Adrenalin, da die Aktivität der PNMT mit der Reifung der Hypothalamus-Hypophysen Achse zunimmt (Wassermann und Bernard, 1971). Ebenso trägt die Ascorbinsäure zur Synthese von Adrenalin bzw. Noradrenalin bei. Einerseits wirkt es als Cofaktor bei der Umwandlung des Dopamins zu Noradrenalin. Andererseits führt es bei der Taube zu einem deutlichen Anstieg des Adrenaliningehaltes (Sitaraman und Ghosh, 1974). Letzteres wird als indirekte Wirkung angesehen, da bekannt ist, daß durch Vitamin C der Gehalt an Corticosteron steigt und dieses zu einer Umwandlung des Noradrenalins zu Adrenalin führt.

4.2.4. Bedeutung der Nebennierenmarkhormone

Neben Stoffwechselwirkungen spielen Adrenalin und Noradrenalin bei den Vögeln eine wichtige Rolle bei der Regulation des Blutdrucks. Adrenalin und Noradrenalin führen zu einer Vasokonstriktion und zu einer deutlichen Erhöhung des systolischen und des diastolischen Blutdrucks mit keinem oder geringen Effekt auf die Herzfrequenz. Noradrenalin scheint dabei wirksamer als Adrenalin zu sein (Harvey et al., 1986).

Da die beiden Catecholamine auch im zentralen Nervensystem hergestellt werden, muß die genaue Rolle der Nebennieren noch geklärt werden (Hodges, 1979).

Ghosh (1980) betont, daß im Gegensatz zu der Situation bei den Säugern, bei denen Adrenalin vor allem Stoffwechselfunktion und Noradrenalin vor allem Kreislaufwirkung besitzt, die Aufgabenteilung der Hormone bei den Vögeln nicht in diesem Maße gegeben ist. So besitzt Noradrenalin einen starken hyperglycämischen Effekt, während Adrenalin stark hyperten wirkt.

Außerdem berichtet Ghosh (1980) über einen hitzeprotektiven Effekt des Noradrenalins. In tropischen Regionen können an heißen Tagen die Vögel in großen Mengen sterben. Dies kann bei Tauben durch die Injektion von Noradrenalin verhindert werden. Der Autor führt diese Wirkung auf einen Einfluß des Noradrenalins auf das Thermoregulationszentrum im Hypothalamus zurück.

5. Lektine

Unter dem Begriff Lektin werden heute Proteine und Glykoproteine zusammengefaßt, die sowohl bei Pflanzen als auch bei Tieren vorkommen und die über die Fähigkeit verfügen, sich an für sie spezifische Kohlenhydrate oder Kohlenhydratgruppen zu binden.

5.1. Geschichte der Lektine

Die Eigenschaft der Lektine, sich an spezifische Kohlenhydrate oder Kohlenhydratgruppen zu binden, stand anfangs nicht im Mittelpunkt der Betrachtung. Vielmehr wurden sie ursprünglich durch ihre Eigenschaft, Erythrozyten zu agglutinieren, charakterisiert. Dabei handelte es sich in erster Linie um pflanzliche Extraktstoffe, die als Phytagglutinine, Haemagglutinine oder Phythaemagglutinine bezeichnet wurden. Mit den gleichzeitig entdeckten Agglutininen tierischer Herkunft wurden sie zu einer Stoffgruppe zusammengefaßt, als man feststellte, daß die Fähigkeit zur Haemagglutination bei beiden Gruppen auf der Eigenschaft, sich an spezifische Kohlenhydratstrukturen zu binden, beruht.

Als Entdecker des ersten Lektins gilt Hermann Stillmark (1888), der in seiner Doktorarbeit in Dorpat, einer Stadt in der heutigen Sowjetunion, den giftigen Inhaltsstoff des Wunderbaumes (*Ricinus communis*), das Ricin, isolierte, und dessen Wirkung auf Blutzellen untersuchte. In der Folge wurde eine Reihe von toxischen pflanzlichen Inhaltsstoffen isoliert, denen allen die haemagglutinierende Wirkung gegenüber Erythrozyten gemeinsam war.

Erst 20 Jahre später wurden die ersten nicht toxischen Lektine durch Landsteiner und Raubitschek (1907) gefunden, die diese aus den Pflanzen *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Lens culinaris* und *Vicia sativa* isolierten. Nach dem zweiten Weltkrieg fand dieses Gebiet der Forschung erneut Interesse, als die ersten blutgruppenspezifisch wirkenden Phythaemagglutinine isoliert wurden. So fand Renkonen (1948), der 99 Arten der Fabaceae untersucht hatte, ein Anti-O in *Lotus tetragonolobus*, *Laburnum alpinum*, *Cytisus ratisbonensis* und *Cytisus sessilifolius* und Anti-A in *Vicia cracca*. Bird (1951), fand das Anti-A₁ in *Dolichos biflorus*, das innerhalb einer Blutgruppe bestimmte Erythrozyten selektiv agglutiniert. Erst sehr viel später gelang es Hayes und Goldstein (1975) ein Blutgruppen-B spezifisches Lektin aus dem Samen von *Bandeiraea simplicifolia* zu isolieren.

Nach der Entdeckung dieser blutgruppenspezifischen Phyttagglutinine prägte Boyd (1954) den Begriff Lektin (nach dem lateinischen *legere* = sammeln, lesen).

Watkins und Morgan (1952) gaben den ersten Hinweis darauf, daß die Blutgruppen durch Kohlenhydratstrukturen determiniert sind. Sie arbeiteten mit Blutgruppen A und Blutgruppen O spezifischen Lektinen. Es gelang ihnen mit spezifischen Kohlenhydraten, N-Azetylgalactosamin bei Blutgruppen A spezifischen Lektinen und α -L-Fucopyranoside bei Blutgruppen O spezifischen Lektinen, die Haemagglutination zu verhindern.

Sie schlossen daraus, daß diese Kohlenhydrate für die jeweilige Blutgruppenspezifität verantwortlich sind und daß die Agglutination durch die Bindung der Lektine an diese Determinanten hervorgerufen wird.

Neben diesen Lektinen pflanzlichen Ursprungs waren gleichzeitig einige Substanzen mit agglutinierender Wirkung aus anderen Lebewesen beschrieben worden. So wurde noch vor dem ersten Weltkrieg die haemagglutinierende Wirkung von Inhaltsstoffen von Pilzen, von Vibrio- und Staphylokokkenkulturen und von Substanzen aus der Hämolymphe des Arthropoden *Limulus polyphemus* bekannt (Luther, 1982).

Das Lektin aus der Weinbergschnecke, das von Prokop et al. (1965) entdeckt wurde, fand vor allem in der experimentellen Medizin Verwendung. Aber auch in Wirbeltieren wurden endogene Lektine nachgewiesen. Ashwell und Morell (1974) entdeckten 1974 ein Lektin auf den Membranen von Leberzellen der Kaninchenleber. Regoeczi et al. (1975) berichteten über phylogenetisch unterscheidbare Zuckerspezifitäten der Lebermembranrezeptoren und fanden, daß im Gegensatz zu dem Galaktose spezifischen Lektin der Kaninchenleber auch Vögel ein lektinanalogenes Glykoprotein an der Leberzellmembran besitzen, jedoch mit der Spezifität für N-Azetylgalactosamin.

5.2. Molekulare Eigenschaften

Chemisch stellen die Lektine eine in sich heterogene Gruppe dar, denen ein gemeinsames Strukturprinzip wie bei den Antikörpern nicht zu eigen ist. Da das Lektin von *Canavalia ensiformis*, Con A, das am besten charakterisierte Lektin ist, soll es hier näher geschildert werden (Goldstein und Poretz, 1986). Es handelt sich um ein Metalloprotein, dessen Molekulargewicht 104000 beträgt, und das sich aus vier identischen Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von je 26000 zusammensetzt.

Jede Untereinheit verfügt über eine Calcium, eine Mangan und eine kohlenhydratbindende Stelle.

Dabei ist die Besetzung der metallbindenden Stellen mit den entsprechenden Elementen Voraussetzung für die Ausbildung der räumlichen Struktur der kohlenhydratbindenden Stelle. Aminosäuresequenz und dreidimensionale Struktur wurden bei diesem Lektin bestimmt, und die Ca-, die Mn- und die kohlenhydratbindende Stelle lokalisiert.

Durch die vier Untereinheiten verfügt das Molekül über vier Kohlenhydratbindungsstellen. Dies ermöglicht es in einem vereinfachten Modell mit vier Zellen gleichzeitig eine Bindung einzugehen, und jene auf diese Weise zu agglutinieren. Heute weiß man, daß für eine Agglutination noch weitere Faktoren verantwortlich sind.

Die Bindung zwischen Kohlenhydrat und Lektin wird dadurch ermöglicht, daß die räumliche Struktur der Bindungsstelle der des Kohlenhydrats genau angepaßt ist. Dabei treten bestimmte Hydroxylgruppen des Kohlenhydrats mit umschriebenen Bindungsarealen in Kontakt und bilden mit diesen Wasserstoffbrückenbindungen aus. Die Bindung erfolgt nicht kovalent.

Bei den übrigen Lektinen handelt es sich meist um Glykoproteine, aber auch reine Proteine kommen vor (PNA, WGA). Ihr Molekulargewicht schwankt zwischen 360000 (WGA) und 26500 (LBA). Auch die Zahl der Untereinheiten pro Molekül ist sehr uneinheitlich. So verfügt WGA über zwei Untereinheiten, während das Lektin von *Limulus polyphemus* über 16 Untereinheiten verfügt.

Als Folge der Arbeiten von Watkins und Morgan (1952) wurde die Spezifität eines Lektins für bestimmte Kohlenhydrate oder Kohlenhydratgruppierungen ermittelt, indem die Haemagglutination durch sogenannte Hapten Hemm Tests aufgehoben wurde.

Dabei erwiesen sich einfache Kohlenhydrate, komplexe Oligosaccharide oder gar Glykoproteine als wirksam. Als Maß für die Bindungsaffinität der jeweiligen Substanz und umgekehrt für die Spezifität des Lektins gilt die molare Konzentration, die zu einer 50 % Hemmung der Haemagglutination führt.

Ein nur selten durchgeführter Weg zur Identifizierung der Bindungsstellen für Lektine besteht in der Isolierung von Rezeptoren. Diese können durch Proteolyse und Reinigung aufgespalten werden. Ein daraus gewonnenes, im Inhibitionsversuch hochwirksames Glykopeptid wird als für die Bindung spezifische Gruppe angesehen. Dessen Struktur kann dann ermittelt werden (Harrison und Lunt, 1977).

5.3. Lektinisolierung

Zur Isolierung von Lektinen wurden anfangs konventionelle Techniken der Proteingewinnung wie Salzpräzipitation, Gel Chromatographie, Ionenaustauschchromatographie oder Elektrophorese angewandt. Einen wesentlichen Fortschritt für die Lektinengewinnung und -reinigung stellte die Einführung der Affinitätschromatographie dar. Diese beruht auf der Eigenschaft der Lektine, sich an Dextrane oder dextrangebundene Kohlenhydrate zu binden. Das gebundene Lektin kann durch Beschicken der Säule mit einer inhibitorisch wirkenden Zuckerlösung gewonnen werden (Roth, 1978).

5.4. Einteilung der Lektine

Die Einteilung der Lektine erfolgt nach ihrer Kohlenhydratspezifität, wobei fünf große Gruppen unterschieden werden (Goldstein und Poretz, 1986).

Spezifität für	Beispiel
1. Mannose oder Glucose	CON A
2. N-Azetyl-D-Glucosamin	WGA, UEA2, GS2
3. N-Azetyl-D-Galactosamin bzw. Galaktose	DBA, SBA, HPA, MPA GS1, PNA, RCA1, RCA2
4. L - Fucose	UEA1
5. Sialinsäure	WGA

5.5. Biologische Bedeutung der Lektine

Heute existiert eine Vielzahl von Theorien über die biologische Bedeutung der Lektine. Diese Theorien sind sicher auf die Gesamtheit der Lektine nicht übertragbar, im Einzelfall dürften sie aber durchaus zutreffend sein.

Eine der ältesten Hypothesen ist dabei die Kohlenhydratfixationstheorie. Danach werden im Boden gelöste Kohlenhydrate durch Lektine gebunden und auf diese Weise für die Ernährung der Pflanze verfügbar gemacht. Bei Nicht-vertebraten und Pflanzen wird eine unspezifische Schutzfunktion diskutiert. Mirelman et al. (1975) berichten von einer das Pilzwachstum hemmenden Wirkung des WGA. Ähnliche Berichte liegen auch für das Lektin aus der Kartoffel vor, das pathogene Bakterienstämme agglutinierte.

Für einige Lektine wird eine aktive Rolle bei der Symbiose zwischen stickstoffbindenden Bakterien und den Wurzeln von Leguminosen angenommen. So berichteten Bohloul et al. (1974), daß das Lektin aus *Phaseolus vulgaris* (PHA) das Bakterium *Rhizobium phaseoli* an die Haarwurzelhaare der Pflanze bindet (hier wurde das Lektin auch gefunden).

Bei einigen Bakterien und Viren wird vermutet, daß sie sich mit Hilfe von Glykoproteinen an spezifische Kohlenhydratstrukturen der Wirtszellen binden, womit die Voraussetzung für eine Infektion gegeben ist.

Der Begriff der Defenseutilisation umschreibt, daß die Lektine, die sich offensichtlich in der gesamten belebten Welt finden lassen, bei Pflanzen eine Rolle bei der Ausnutzung des Stoffwechsels von Bodenbakterien spielen (Symbiose) und bei Invertebraten und Vertebraten vorwiegend Bedeutung im Eliminationsprozeß gealterter Zellen, fremder Glykosubstanzen oder Zuckerstrukturen haben. Das ist auch im Säugetierorganismus ähnlich, wo die Leber die Zellen, die ihre Rezeptoren bzw. Zuckerstrukturen nicht mehr vollständig besitzen, aus der Blutbahn eliminiert (Luther, 1982).

5.6. Einsatz von Lektinen

Lektine sind Substanzen, die mit Mono- oder Oligosacchariden spezifische Bindungen eingehen. Diese Kohlenhydratstrukturen treten in biologischen Membranen ausschließlich auf der äußeren, nicht cytoplasmatischen Seite auf.

Sie sind Bestandteil von Glykoproteinen und Glykolipiden, die in der äußeren Zellmembran verankert sind. An diese Kohlenhydratstrukturen können sich unspezifisch weitere Proteoglykane und Glykoproteine binden. Diese oligosaccharidreiche Zone auf der Zelloberfläche wird auch als "cell coat" oder Glykocalix bezeichnet. Aufgrund der exponierten Stellung der Oligosaccharide wäre es möglich, daß diese als Zellerkennungssysteme dienen und Signalwirkung für Nachbarzellen und Zell-Zellkontakte besitzen. Voraussetzung dafür wäre, daß kontaktierende Zellen über Erkennungssysteme verfügen, die solche Strukturen spezifisch und unverwechselbar identifizieren. Diese Erkennungsmechanismen spielen eine wichtige Rolle in der Embryologie, wo die Organogenese mit vielfältigen Prozessen der Zellerkennung, der Zellwanderung und der Zellreifung verbunden ist. Hier erlangen die Lektine in der Darstellung von Wachstums- und Reifungsprozessen große Bedeutung.

Breiten Einsatz haben die Lektine speziell in der Erforschung der Reifungsprozesse während Spermio- und Oogenese gefunden. Hier konnten erhebliche Veränderungen des Lektinbindungsstellenmusters in den einzelnen Kapazitationsabschnitten festgestellt werden (Sinowatz et al., 1987).

Ein wichtiges Einsatzgebiet für Lektine stellt die Tumorforschung dar. Hier werden die gegenüber benignen Zellen veränderten Eigenschaften der Zelloberfläche maligner Zellen, die mit einer verminderten Kontaktinhibition und daraus resultierender ungehemmter Zellproliferation einhergehen, erforscht. Eventuell könnten Lektine sogar als Tumormarker dienen. Voraussetzung dafür wäre die Darstellung der Lektinbindungsstellen von benignen Zellen unter physiologischen Bedingungen.

Dafür steht eine Reihe von Lektinkonjugationen zur Verfügung. So können Fluorescein (FITC), Rhodamin, Ferritin, Meerrettichperoxidase (HRP), kolloidales Gold, Radionuklide oder die Avidin Biotin Komplex Methode als Lektinmarker verwendet werden (Roth, 1978).

In der analytischen Biochemie werden Lektine zur Gewinnung und Isolierung von Glykoproteinen durch Affinitätschromatographie verwendet. Durch Anwendung von immobilisierten Lektinen in der Säulenchromatographie (z. B. an Sephadex gebundenes CON A) können Membranen und Plasmabestandteile, Enzyme, Antigene oder Glykoproteine isoliert werden. Auch eine selektive Fraktionierung vollständiger Zellen oder Zellkompartimente ist möglich.

Als weitere Anwendungsmöglichkeit könnten die Lektine Eingang in die Pharmazie finden. Mit einem Medikament konjugiert würden sie als Carrier dienen, um dieses an die Zielzellen zu bringen, in denen es benötigt wird. Dies wäre vor allem im Zusammenhang mit der Tumorforschung und Tumorthherapie von Interesse (Roth, 1978).

Material und Methode

1. Untersuchungsmaterial

Als Material standen 50 Wachteln (*Coturnix coturnix japonica*) aus einer Brut des Institutes für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München zur Verfügung.

Die Tiere schlüpften am 16.12.85. Es handelte sich je zur Hälfte um männliche und weibliche Tiere. Sie wurden bei Raumtemperatur und konstantem Lichtregime gehalten und mit artgemäßem Alleinfutter aufgezogen.

Für die Überlassung der Tiere danke ich Herrn Prof. Dr. Zucker sowie Herrn Dr. rer. nat. Sternek

2. Materialentnahme

Es wurden von insgesamt 30 Tieren die Nebennieren entnommen. Bei 14 Tieren erfolgte die Probenentnahme im Alter von acht Wochen. Von diesen 14 Tieren wurden bei zehn die Organe in Bouin'scher Lösung fixiert, während die restlichen vier mit 0,15 M 3% Glutaraldehydlösung pH 7,4 immersionsfixiert wurden.

Eine zweite Probenentnahme erfolgte bei sechs Tieren im Alter von 16 Wochen. Von diesen wurden bei vier Tieren Korrosionspräparate hergestellt. Bei den übrigen zwei Tieren wurden die Organe nach Pfeifer und Jarisch (Romeis, 1948) in einem Gemisch aus neun Teilen Kaliumdichromat (3,5 %) und ein Teil Formol fixiert.

Von zehn weiteren Tieren im Alter von 20 Wochen wurden bei acht die Nebennieren in Bouin'scher Lösung, bei den übrigen zwei Tieren in 3% Glutaraldehydlösung pH 7,4 fixiert.

Schema der Probenentnahme

<u>Alter</u>	<u>Anzahl der Tiere</u>	<u>Fixationsmittel</u>	<u>Verfahren</u>
8 Wochen	10	Bouin	Lichtmikroskopie
	4	GAH	TEM
20 Wochen	8	Bouin	Lichtmikroskopie
	2	GAH	Semidünnschnitt
16 Wochen	2	Pfeifer u. Jarisch	Lichtmikroskopie
	4		REM

Vorgehen bei der Probenentnahme

Die Materialentnahme für die Lichtmikroskopie erfolgte in folgender Weise: Die Tiere wurden mit 1 ml Narcoren® (Pentobarbital), Fa. Iffa Merieux, in den *M. pectoralis profundus* eingeschläfert.

Nach Eintritt des Todes wurde die Leibeshöhle mit einer Inzision von Kloake bis Sternum in der Medianen eröffnet. Zwei Entlastungsschnitte wurden entlang des Rippenbogens durchgeführt. Nach Entfernung der Verdauungsorgane und der Gonaden wurden die beiden Nebennieren, die als etwa 2 x 2 x 4 mm große, gelblich bis rötliche Gebilde am kranialen Pol der Nieren erkennbar waren, vorsichtig mit Skalpell und Pinzette präpariert und in Bouin-Lösung eingelegt.

Bei zwei Tieren wurden die Organe zur Darstellung der chromaffinen Substanz nach Pfeifer und Jarisch (Romeis, 1948) fixiert.

Bei den Proben für die Elektronenmikroskopie und den Semidünnschnitt wurden die Organe mittels Perfusion fixiert (Kjaerheim, 1968). Zunächst wurde den Tieren 2500 I.E. Heparin (Liquemin®), Hoffmann La Roche, injiziert. Nach 20 Minuten erfolgte dann die intramuskuläre Injektion von 1 ml Narcoren in die tiefe Pectoralismuskulatur. Die Leibeshöhle wurde noch während der Narkose wie oben beschrieben eröffnet und das Herz durch Hochklappen des Sternums freigelegt. Bei noch schlagendem Herzen wurde nach Eröffnen des Pericards das stumpf angespitzte, freie Ende einer dünnen Kunststoffsonde durch das Myokard in die linke Herzkammer eingeführt, Richtung Aorta geschoben und mit einer Arterienklemme fixiert. Mit einer Schere wurde der rechte Vorhof vorsichtig eröffnet. Unter gleichbleibendem und konstantem Druck wurde mit physiologischer Kochsalzlösung vorgespült, bis das gesamte Gefäßbett von Blut frei war und klare Kochsalzlösung aus dem rechten Vorhof austrat. Anschließend wurde mit 0,15 M 3% Glutaraldehydlösung pH

7,4 fixiert. Nach erfolgter Perfusion wurden die Organe entnommen, in 0,15 M Natrium-Cacodylatpuffer gelegt und in Würfel mit einer Kantenlänge von 1 mm geschnitten. Die Nachfixation erfolgte in 0,15 M 3% Glutaraldehydlösung pH 7,4 für drei Stunden.

Für das Anfertigen der Korrosionspräparate wurde wie oben beschrieben vorgegangen. Statt der Hauptspülung mit 3% GAH wurden unter kontrolliertem Druck 10 ml/Min einer nach Amselgruber und König (1986) gefertigten Kunststofflösung injiziert. Die Injektion dauerte 15 Minuten. Die Polymerisation setzte 15 Minuten nach Zusatz des Härters ein und wurde durch das Einbringen der Proben in Leitungswasser vollendet. Nach der Mazeration wurden die Organe luftgetrocknet.

3. Histologische Untersuchungsmethoden

3.1. Lichtmikroskopie

Die in Bouin fixierten Organe wurden durch eine mit 50% Alkohol beginnende, aufsteigende Alkoholreihe dehydriert und in Paraffin eingebettet. Mit einem Leitz Rotationsmikrotom (Typ 1512) wurden 4µm dicke Paraffinschnitte hergestellt und auf entfettete Objektträger aufgezogen.

Die Paraffinschnitte wurden sowohl für konventionelle histologische und histochemische Färbungen als auch für den Nachweis von Lektinbindungsstellen benutzt. Aus den beiden Altersgruppen mit acht bzw. 20 Wochen standen dafür jeweils vier Objektträger mit drei aufgezogenen Schnitten zur Verfügung. Die beiden Altersgruppen wurden vergleichend untersucht. Es handelte sich zur Hälfte um männliche und weibliche Tiere.

3.1.1. Konventionelle histologische Färbungen

Folgende Färbungen (Romeis, 1968) wurden ausgeführt: Hämatoxylin – Eosin, Azan, Trichromfärbung nach Masson Goldner, Silberimprägnation nach Bodian, PAS- und Alcianblau Färbung. Außerdem wurde die Alcianblau Färbung nach Solcia (1968) angewandt.

Bei der Alcianblaufärbung nach Solcia wurden durch eine Hydrolyse mit 0,2n HCL saure Substanzen wie DNA, RNA und saure Mucopolysaccharide extrahiert. Aufgrund der unterschiedlichen Basophilie der sekretorischen Granula werden Adrenalin haltige Zellen von Alcianblau stark angefärbt, während Noradrenalin haltige Granula sich nicht anfärben.

Die Kerne der nach Pfeifer und Jarisch zur Darstellung der chromaffinen Substanz fixierten Organproben wurden mit Hämalaun gegengefärbt.

3.1.2. Lektinbindungsstellennachweis

Der Nachweis von Lektinbindungsstellen erfolgte nach der direkten Methode. Es standen 13 Lektine, die mit Fluorescein Isothiocyanat (FITC), und sechs Lektine, die mit Meerrettichperoxidase (Horseradishperoxidase oder HRP) konjugiert waren, zur Verfügung.

Bei den 13 FITC konjugierten Lektinen handelte es sich um CON A, DBA, GS1, GS2, HPA, MPA, PNA, RCA1, RCA2, SBA, UEA1, UEA2 und WGA. Die sechs HRP markierten Lektine waren CON A, DBA, PNA, RCA1, UEA1 und WGA.

Für den Nachweis der Lektinbindungsstellen mit FITC konjugierten Lektinen wurden die Präparate entparaffiniert, über eine absteigende Alkoholreihe rehydriert, 10 Minuten in 0,01 M PBS Lösung pH 6,8 gewaschen und luftgetrocknet. Nach dem Trocknen wurden die etwa 2 – 3 mm großen Schnitte mit der Lektinlösung beschichtet. Die für das jeweilige Lektin optimale Konzentration war zuvor in einem Vorversuch bestimmt worden. Die Verdünnungsstufen betrugen dabei 0,01 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,05 mg/ml und 0,1 mg/ml. Die Proben wurden in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Darauf folgte dreimaliges Spülen mit 0,01 M PBS Lösung pH 7,4 für jeweils 10 Minuten, um das überschüssige Lektin zu entfernen. Die Proben wurden mit Fluorostab® eingedeckelt.

Beim Lektinbindungsstellennachweis mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierten Lektinen wurden alle Reaktionen bei Raumtemperatur und bei einem pH von 6,8 durchgeführt. Um die Aktivität der endogenen Peroxidase zu hemmen, wurden die Schnitte nach der Rehydrierung durch die absteigende Alkoholreihe 10 Min. in 10% Methanolösung gelegt. Vor und nach der 30 Min. langen Inkubation wurden die Schnitte gründlich gespült (3 x 10 Min. mit 0,01 M PBS, pH 6,8). Anschließend wurden die Objektträger mit einem frisch hergestellten Gemisch aus Diaminobenzidin (0,5 mg / ml) und H_2O_2 (0,01%) überschichtet. Die Reaktion wurde erst dann unterbrochen, wenn keine Farbänderung mehr auftrat (Dauer etwa 10 – 15 Min.). Nach abermaligem Spülen (PBS 3 x 10 Min.) wurden die Schnitte mit 0,1% Oso_4 (Dauer 3 – 4 Min.) kontrastiert. Nach weiterem Spülen mit PBS (3 x 10 Min.) konnten die Proben entwässert und mit Eukitt® eingedeckelt werden.

Als Kontrolle wurde bei jedem Lektin neben einer Negativkontrolle mit PBS die kompetitive Hemmung mit der jeweiligen inhibitorisch wirkenden ZuK-kerlösung durchgeführt. Zusätzliche Negativkontrollen mit PBS und DAB

bzw. mit PBS, DAB und OsO_4 waren bei den HRP konjugierten Lektinen erforderlich.

Die Lektine und die für die kompetitive Hemmung notwendigen Zucker wurden von der Firma Medac GMBH, Hamburg bezogen. Hersteller sind die E.Y. Laboratories, Inc., P.O. Box 1787, San Mateo, CA 94401.

Die Auswertung erfolgte mit einem LEITZ DIALUX 20 Mikroskop mit Fluoreszenz-Auflichtilluminator PLOEMOPAK 2.4.

Die morphometrischen Messungen wurden bei einer Vergrößerung von 40×6 mit Hilfe eines Meßokulars der Fa. Leitz, Wetzlar durchgeführt.

Die photographische Dokumentation ermöglichte ein LEITZ VARIO-ORTHOMAT Kamerasystem mit automatischer Belichtungszeiteinstellung.

Für die Aufnahmen wurde bei den FITC Präparaten ein Tri-X-Pan Film der Firma AGFA GEVAERT mit 400 Asa benützt.

Bei den Durchlichtpräparaten stand ein AGFA PAN Film mit 25 Asa zur Verfügung.

Abkürz.	Spezifität	Marker	Inhibitor	Konz.
Con A	Mannose	FITC, HRP	α -D-Mannose	0,1 M
WGA	GlcNac	FITC, HRP	Sialinsäure	0,07 M
UEA 2	GlcNac	FITC, HRP	GlcNac	0,45 M
GS 2	GlcNac	FITC	α -D-Galactose	0,2 M
RCA 1	Galactose	FITC, HRP	α -D-Galactose	0,2 M
RCA 2	Galactose	FITC	α -D-Galactose	0,2 M
PNA	Galactose	FITC, HRP	α -D-Galactose	0,2 M
GS 1	Galactose	FITC	α -D-Galactose	0,2 M
MPA	GalNac	FITC	α -D-Galactose	0,2 M
DBA	GalNac	FITC, HRP	α -D-Galactose	0,2 M
SBA	GalNac	FITC	Lactose	0,2 M
HPA	GalNac	FITC	GalNac	0,2 M
UEA 1	L- Fucose	FITC, HRP	α -L-Fucose	0,2 M

Tabelle 1: Die verwendeten Lektine und deren Inhibitoren

3.2. Transmissionselektronenmikroskopie

Für die Aralditeinbettung wurden die in 1 mm Kantenlänge geschnittenen Organproben für drei Stunden in 0,15 M 3% Glutaraldehydlösung pH 7,4 (GAH in 0,15 M Natrium - Cacodylatpuffer pH 7,3 , 310 mosmol) fixiert und anschließend 24 Stunden in Waschlösung (0,15 M Natrium-Cacodylatpuffer pH 7,3 , 310 mosmol) gelagert.

Die Kontrastierung erfolgte mit 1% Osmiumsäure bei 4°C. Daraufhin wurden die Proben über eine aufsteigende Acetonreihe entwässert und in Araldit eingebettet. Die Polymerisation erfolgte bei 35°C und weitere 48 Stunden bei 45°C.

Mittels eines Ultramikrotoms (LKB Ultratom Typ 4801 A) wurden Semidünnschnitte in einer Dicke von ca. 1 µm hergestellt und anschließend auf dem Strecktisch kurz (20 sec) mit Methylenblau nach Richardson gefärbt, mit Aqua. dest. abgespült und luftgetrocknet.

(Methylenblaulösung: 1 gr. Methylenblau, 1 gr. Dinatriumtetraborat, 40 gr. Saccharose in 100 ml Aqua bidest. und 1 - 9 Tropfen Formol 35%)

3.2.1. Semidünnschnitt

Zusätzlich zu den Übersichtsfärbungen mit Methylenblau für die Elektronenmikroskopie wurde an einigen Semidünnschnitten die argentaffine Reaktion (Böck, 1984) zur Darstellung Noradrenalin enthaltender Granula durchgeführt. Dabei wurde die ammoniakalische Silbernitratlösung nach Singh (1964) verwendet.

3.2.2. Ultradünnschnitt

Die Ultradünnschnitte wurden mit einem LKB Ultratom (Typ 4801 A) hergestellt und mit einem elektronisch gesteuerten Ultrastainer 2168 (Fa. LKB) mit 2% Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert.

Die Schnitte wurden mit einem Elektronenmikroskop Em 101 (Siemens) untersucht und auf Agfa-Scientia G-9 Filmen photographisch festgehalten.

3.3. Rasterelektronenmikroskopie

Die Mazeration erfolgte stufenweise in 10, 20, und 30% Salzsäure im Wärmeschrank bei 45°C. Nach gründlichem Waschen wurden die getrockneten Blöcke mit Leitkohlenstoff auf Objektträgern fixiert und mit Gold besputtert (20 nm). Die Präparate wurden mit einem Philips 500 Rasterelektronenmikroskop bei Beschleunigungsspannungen von 5–10 kV untersucht

Eigene Ergebnisse

1. Lichtmikroskopie

1.1. Konventionelle Färbungen

Übersichtsfärbungen

In den mit Hämatoxylin-Eosin, Azan und Masson Goldner gefärbten Präparaten konnten die verschiedenen Anteile der Nebenniere der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) im Lichtmikroskop deutlich unterscheidbar dargestellt werden.

Die Nebenniere der japanischen Wachtel wird von einer bindegewebigen Kapsel umgeben. In das Bindegewebe der Kapsel sind Ansammlungen aus Ganglienzellen eingebettet. Direkt unterhalb der Kapsel liegt eine mehrfach unterbrochene, einzellige Lage von Zellen, die zum Adrenalkörper gehören. Von der Kapsel aus ziehen bindegewebige Septen, die Blutgefäße enthalten, in das Organinnere. Dort formen sie zahlreiche zwischen den Zellsträngen des Parenchyms verlaufende Kapillaren, die bei perfundierten Organen oft nur als Spalt erkennbar sind.

Das aus Adrenal- und Interrenalzellen bestehende Parenchym wird aus ineinander verwobenen Zellsträngen der beiden Gewebegruppen gebildet. Die Zellen des Interrenalkörpers bilden als Zellhaufen im subcapsulären und als Zellstränge im Inneren Bereich der Nebenniere den größten Teil des Parenchyms.

Sie sind von einem in der Azanfärbung deutlich wahrnehmbaren, die Basalmembranen begleitenden, bindegewebigen Netz umgeben.

Im subcapsulären Bereich sind die Zellen des Interrenalkörpers bei der japanischen Wachtel in kugeligen, kompakt erscheinenden Zellhaufen angeordnet. Aus diesen Zellhaufen ziehen die Interrenalzellen in gestreckt verlaufenden Strängen in das Organinnere. Für den subcapsulären und den inneren Bereich der Nebenniere zeigen die Zellen des Interrenalkörpers somit ein der Zona glomerulosa und der Zona reticularis der Säuger äquivalentes Bild. Der Übergang zwischen subcapsulärem und innerem Bereich erfolgt abrupt. Die im subcapsulären Bereich kompakt aneinander gelagerten Zellen zeigen eine einheitlich runde Form. In der H.E. Färbung ist der basophile Kern von einem schmalen eosinophilen Cytoplasmasaum umgeben. Der Zelldurchmesser variiert von 9–12 μm , der Kerndurchmesser beträgt 5 μm .

Im inneren Bereich bilden die Interrenalzellen eine pseudotubuläre Struktur aus. Die hochprismatischen Zellen sind in zwei zueinander parallel liegenden Zellreihen angeordnet, zwischen denen in einigen Fällen ein Pseudolumen erkennbar ist. Die basophilen Kerne liegen meist in dem dem Pseudolumen benachbarten Drittel. Das sich eosinophil anfärbende Cytoplasma ist von lockerer, wabiger Struktur. Der Zelldurchmesser schwankt zwischen 15–30 μm . Der mittlere Kerndurchmesser beträgt 5 μm .

Zwischen den Zellsträngen des Interrenalkörpers befinden sich die runden bis länglichen Zellhaufen des Adrenalkörpers. Diese erscheinen als kompakte Gebilde, in denen die Zellen ungeordnet gruppiert sind. Aufgrund ihrer Größe stehen die Zellhaufen des Adrenalkörpers miteinander in Verbindung. Im Organinneren ist der Anteil des Adrenalkörpers am Gesamtparenchym größer als am Organrand. In der Azanfärbung stellt sich ein Fasergerüst dar, das die Zellhaufen des Adrenalkörpers umgibt. Vereinzelt lassen sich zarte Ausläufer dieses Gerüsts beobachten, die in das Innere der Zellhaufen zwischen die einzelnen Adrenalzellen ziehen.

Die Zellpopulation der Adrenalzellen ist in sich homogener als die Zellen des Interrenalkörpers. Sie zeigen eine runde bis ovale Form. Das in der H.E. Färbung schwach basophile Cytoplasma macht einen fein granulären Eindruck. Die Kerne enthalten meist einen deutlich wahrnehmbaren Nucleolus. Gelegentlich können auch zwei Nucleoli vorkommen. Der mittlere Kerndurchmesser beträgt 4 μm , der Zelldurchmesser schwankt zwischen 9–15 μm .

Silberimprägnation nach Bodian

In der Silberimprägnation nach Bodian zeigen sich vereinzelt zarte, dunkle Fasern, die entlang der Kapillaren aus der bindegewebigen Kapsel in das Organinnere ziehen. Innerhalb der Zellhaufen des Interrenalkörpers können aufgrund der argentaaffinen Reaktion keine Fasern dargestellt werden. Bei den Zellhaufen des Adrenalkörpers ist die Beurteilung, ob die Fasern zwischen die einzelnen Zellen des Adrenalkörpers ziehen oder in ihrem Verlauf an die Basalmembran gebunden sind, nicht möglich, da sich die Adrenalzellen selbst argentaaffin verhalten.

PAS und Alcian Blau-Färbung

Bei der PAS Färbung kommt es zu einer schwachen Anfärbung der Basalmembranen von Adrenalkörper und Interrenalkörper, wobei die Basalmembranen des Interrenalkörpers breiter und damit deutlicher wahrnehmbar sind als die des Adrenalkörpers. Letztere werden nicht in allen Fällen dargestellt. Das Cytoplasma der endokrinen Zellen färbt sich nicht an.

In der Alcianblaufärbung, pH 2,5, zeigt nur das Cytoplasma der Adrenalzellen eine leichte Anfärbung.

1.2. Nachweis von Lektinbindungsstellen

Die beiden Altersgruppen mit 8 bzw. 20 Wochen wurden vergleichend untersucht. Auf Unterschiede, die zwischen den beiden Altersgruppen auftraten, wird bei der Auswertung der entsprechenden Lektine hingewiesen.

1.2.1. FITC konjugierte Lektine

Bei den mit FITC markierten Lektinen konnten für CON A und WGA in einer Konzentration von 0,02 mg/ml in der Nebenniere der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) Lektinbindungsstellen nachgewiesen werden.

Die Lektine PNA, RCA1, RCA2, DBA, SBA, UEA1, UEA2 und HPA zeigten nur in einer Konzentration von 0,1 mg/ml nachweisbare Reaktionen. Für die Lektine MPA, GS1 und GS2 wurden keine Bindungsstellen festgestellt.

Eine Übersicht über das Vorkommen von Bindungsstellen in der Nebenniere der japanischen Wachtel für die verwendeten FITC konjugierten Lektine gibt Tabelle 2 (S. 54). Die unterschiedlichen Grade der Fluoreszenz wurden als negativ, schwach, mittel oder stark positiv beurteilt. Der Einfachheit halber wurden in der Tabelle die Symbole -, +, ++, +++ verwendet.

WGA

Für das mit Fluorescein-Isothiocyanat konjugierte Weizenkeimagglutinin konnten an den Zellen des Adrenalkörpers, des Interrenalkörpers, der Neuronen und an den Basalmembranen des Interrenalkörpers Bindungsstellen nachgewiesen werden. Die Beschichtungen wurden in einer Konzentration von 0,02mg/ml durchgeführt.

Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen eine sehr starke, diffuse Fluoreszenz ihres Cytoplasmas. Diese ist im subcapsulären Bereich stärker ausgebildet als im inneren Bereich der Nebenniere. Am Kern ist sie häufig ringförmig verstärkt.

Die Zellen des Interrenalkörpers färben sich im subcapsulären und im inneren Bereich unterschiedlich an. Neben einer punktförmigen Fluoreszenz, die wahllos über das Cytoplasma verteilt erscheint, tritt im subcapsulären Bereich eine streifenförmige Fluoreszenz auf, die direkt am Kern gelegen ist. Ihre Lage entspricht der des Golgi Apparates. Auch im inneren Bereich der Nebenniere zeigt sich unmittelbar am Kern eine deutliche Fluoreszenz. Diese umschließt den meist dem Pseudolumen benachbart liegenden Kern halbmondförmig. Ihre Intensität nimmt mit der Entfernung zum Kern ab.

Die im subcapsulären Bereich auftretende punktförmige Fluoreszenz verliert sich im Organinneren, während die um den Kern gelegene, starke Fluoreszenz klarer hervortritt.

Neben den bisher beschriebenen Lektinbindungsstellen für WGA innerhalb der Adrenal- und Interrenalzellen tritt eine sehr deutliche Fluoreszenz an der den Kapillaren benachbarten Oberfläche der Zellstränge des Interrenalkörpers auf. Sie umgibt die Zellstränge des Interrenalkörpers vollständig. Ihr Verlauf ist mit dem der Basalmembranen identisch.

Die innerhalb der bindegewebigen Kapsel gelegenen Neuronen zeigen neben einer schwachen diffusen Fluoreszenz ihres Cytoplasmas eine intensivere grobschollige Fluoreszenz, die circular um den Kern angeordnet ist.

CON A

Die Beschichtungen der Schnitte mit dem Lektin aus *Canavalia ensiformis* wurden in einer Konzentration von 0,02 mg/ml durchgeführt. Es wurden in den Zellen des Adrenal-, des Interrenalkörpers und der Neuronen Bindungsstellen festgestellt.

Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen für CON A innerhalb eines Zellhaufens ein uneinheitliches Bindungsverhalten. Während bei der Mehrzahl der Adrenalzellen eine schwache, feinkörnige, unregelmäßig angeordnete Fluoreszenz des Cytoplasmas auftritt, zeigen einzelne Adrenalzellen eine sehr starke Fluoreszenz ihres gesamten Cytoplasmas. Diese ist in der Golgi Region besonders intensiv. Zwischen diesen beiden Formen gibt es Übergänge, einige Zellen zeigen keine Fluoreszenz.

Neben einer diffusen Fluoreszenz des gesamten Cytoplasmas lassen die Zellen des Interrenalkörpers eine im subcapsulären und im inneren Bereich unterschiedliche Intensität erkennen. Diese konzentriert sich bei den kompakten Zellen des subcapsulären Bereichs auf die Golgi Region, während sie bei den Zellen der in das Innere der Nebenniere ziehenden Zellstränge kometschweifartig in das übrige Cytoplasma übergeht.

Die in der Kapsel gelegenen Neuronen zeigen eine homogene intensive Fluoreszenz ihres Cytoplasmas.

Die Basalmembranen des Adrenal- und des Interrenalkörpers können mit CON A nicht immer eindeutig dargestellt werden.

PNA

Bei dem Nachweis von Bindungsstellen mit dem Lektin aus *Arachis hypogaea* zeigte die Nebenniere der japanischen Wachtel nur in der Konzentration von 0,1 mg/ml eine auswertbare Reaktion.

Eine schwache, fleckige Fluoreszenz des Cytoplasmas findet sich in den Zellen des Adrenalkörpers. Eine deutlich markiertere Reaktion dagegen ergibt sich bei den Zellen des Interrenalkörpers der subcapsulären Zone in der Golgi Region. Diese nimmt von den Zellen des subcapsulären Bereichs zur Organmitte hin ab, so daß sie bei den Interrenalzellen des Organinneren verschwindet.

In den beiden Altersgruppen unterscheidet sich das Verhalten der Basalmembranen. Während die Nebennieren bei den 8 Wochen alten Tieren keine Bindungsstellen aufwiesen, reagieren die der 20 Wochen alten Tiere leicht positiv.

RCA1, RCA2

Die beiden Lektine aus *Ricinus communis* verhielten sich nahezu identisch und werden in der Auswertung deshalb gemeinsam aufgeführt. Der Bindungsstellennachweis wurde in einer Konzentration von 0,1mg/ml durchgeführt.

Die Zellen des Adrenalkörpers weisen vereinzelt eine leichte Fluoreszenz des Cytoplasmas auf. Diese ist diffus verteilt. Bei den Zellen des Interrenalkörpers tritt in der Golgi Region eine umschriebene Fluoreszenz auf,

deren Intensität in der inneren Zone abnimmt. Die Reaktionen sind bei RCA2 unterschiedlich stark ausgeprägt. Die Basalmembranen der Zellstränge des Interrenalkörpers werden deutlich dargestellt.

DBA, SBA

Die aus *Dolichos biflorus* und der Soja Bohne stammenden Agglutinine DBA und SBA zeigten ein übereinstimmendes Lektinbindungsverhalten. Die schwachen Reaktionen waren bei den beiden Altersgruppen unterschiedlich ausgeprägt.

Im Cytoplasma der Zellen des Adrenalkörpers zeigen die Tiere der älteren Gruppe (20 Wochen) eine schwache Fluoreszenz. Diese konnte bei den jüngeren Tieren nicht nachgewiesen werden. In dieser Gruppe werden dagegen die Basalmembranen schwach positiv dargestellt. Bei den Zellen des Interrenalkörpers konnten in keiner Gruppe Lektinbindungsstellen nachgewiesen werden.

Die Auswertung erfolgte bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml.

HPA

Das *Helix pomatia* Agglutinin konnte sich nicht an die Zellen des Adrenal- oder Interrenalkörpers binden. Allerdings tritt bei den 20 Wochen alten Tieren an den Basalmembranen des Interrenalkörpers eine schwache Fluoreszenz auf. Die Konzentration des Lektins betrug 0,1 mg/ml.

UEA1, UEA2

Mit diesen aus *Ulex europaeus* stammenden Agglutininen treten in den Zellen des Adrenal- und des Interrenalkörpers keine Bindungsstellen auf.

Allein die Basalmembranen der Interrenalkörper von Tieren aus der jüngeren Gruppe zeigen eine schwache Fluoreszenz. Die Beschichtungen waren in einer Konzentration von 0,1 mg/ ml durchgeführt worden.

MPA, GS1, GS2

Diese drei Lektine konnten sich in der Konzentration von 0,1mg/ml weder an Zellen des Adrenal- oder Interrenalkörpers noch an die Basalmembranen binden.

1.2.2. HRP konjugierte Lektine

Die Untersuchungen der Nebenniere der japanischen Wachtel mit Meerret-tichperoxidase (HRP) konjugierten Lektinen erfolgte bei WGA und RCA1 in einer Konzentration von 0,02 mg/ml, bei CON A und PNA in einer Konzentration von 0,1 mg/ml.

Für die Lektine DBA und UEA1 konnten in dieser Konjugation keine Bindungsstellen nachgewiesen werden. Eine Übersicht über die hier erhaltenen Ergebnisse gibt Tabelle 3. Ein Unterschied zwischen den beiden Altersgruppen trat nicht auf.

WGA

Für das Weizenkeim Agglutinin konnten in dieser Konjugation in den Zellen des Adrenal-, des Interrenalkörpers, den Neuronen und an den Basalmembranen des Interrenalkörpers Bindungsstellen nachgewiesen werden.

Die Zellen des Adrenalkörpers weisen allgemein eine deutliche feingranuläre Anfärbung ihres Cytoplasmas auf, so daß die Kerne oft nur undeutlich zu erkennen sind.

Bei den Zellen des Interrenalkörpers treten im subcapsulären und im unmittelbar daran anschließenden inneren Bereich direkt am Kern gelegene Granula auf. Diese sind vor dem Kern, das heißt in Richtung auf die Basalmembran, seitlich des Kernes oder apical davon, das heißt in Richtung auf das Pseudolumen, gelegen.

Im Organinneren sind die Niederschläge von geringerer Intensität oder verschwinden ganz. Die Basalmembranen des Interrenalkörpers werden dargestellt.

Bei den in der Kapsel gelegenen Neuronen wird das Cytoplasma schwach angefärbt.

Die Auswertung erfolgte bei einer Konzentration von 0,02 mg/ml.

RCA1

Ein individuell unterschiedliches Verhalten zeigen die Parenchymzellen der Nebenniere der japanischen Wachtel bei den Untersuchungen mit Meerrettichperoxidase konjugiertem RCA1.

Die Zellen des Adrenalkörpers färben sich bei den meisten Tieren in wechselnder Intensität an. In den Zellen des Interrenalkörpers kommt es bei diesen Tieren neben einer diffusen Verfärbung des Cytoplasmas zu einem mar-

kanten Niederschlag in der Golgi Region, der bei den Interrenalzellen der inneren Region undeutlicher wird.

Bei den übrigen Tieren bleiben die Zellen des Adrenalkörpers weitgehend ungefärbt, nur bei einzelnen Zellen treten Bindungsstellen auf. Das Cytoplasma der Zellen des Interrenalkörpers zeigt dann eine homogen diffuse Reaktion.

CON A

Bei den Untersuchungen mit dem Phythaemagglutinin aus *Canavalia ensiformis* wurde der histochemische Nachweis mit einer Lektinkonzentration von 0,1 mg/ml durchgeführt.

Das Cytoplasma der Zellen des Adrenalkörpers färbt sich in unterschiedlichem Maß diffus bis feingranulär an, so daß innerhalb eines Zellhaufens einzelne Zellen mit einem deutlichen Niederschlag neben solchen, die keine Reaktion zeigen, zu liegen kommen.

In den Zellen des Interrenalkörpers ist die Lektinbindungsreaktion erheblich stärker ausgeprägt als in den Zellen des Adrenalkörpers.

Sie imponiert durch eine homogene Grundfärbung des Cytoplasmas der Interrenalzellen, die in der subkapsulären Zone unmittelbar um den Kern herum zusätzlich intensiviert ist. In der inneren Zone tritt neben der homogenen Grundfärbung eine Intensivierung der Lektinbindung direkt am Kern auf, die sich mit wachsendem Abstand zum Kern langsam auflockert.

Die Basalmembranen können mit HRP konjugiertem CON A nicht dargestellt werden. Das Cytoplasma der in der Organkapsel liegenden Neuronen weist eine starke homogene Reaktion auf. Die für den Nachweis erforderliche Konzentration des CON A betrug 0,1 mg/ml.

PNA

Bei der Beschichtung der Nebennieren der japanischen Wachtel mit dem Haemagglutinin der Erdnuss, *Arachis hypogaea*, reagieren die Zellen des Adrenalkörpers nur in Einzelfällen mit einer schwachen Anfärbung ihres Cytoplasmas.

Die überwiegende Mehrheit der Adrenalzellen weist keine Reaktion auf.

Die Zellen des Interrenalkörpers verhalten sich je nach Lage unterschiedlich. Im subcapsulären Bereich tritt neben einer diffusen Anfärbung des Cytoplasmas unmittelbar am Kern eine verstärkte Lektinbindung auf. Diese verliert sich bei den Interrenalzellen der inneren Zone, so daß das Cytoplasma bei diesen nur noch diffus verfärbt ist.

Die beiden Altersgruppen unterscheiden sich dahingehend, daß sich bei den älteren Tieren die Basalmembranen der Interrenalzellen abzeichnen.

DBA, UEA I

Für die mit HRP konjugierten Lektinen aus *Dolichos biflorus* und *Ulex europaeus* konnten in der Nebenniere der japanischen Wachtel keine Bindungsstellen festgestellt werden.

1.3. Semidünnschnitt

In den Semidünnschnitten, bei denen die argentaffine Reaktion nach Böck (1984) durchgeführt wurde, zeigt das Cytoplasma der schwarz gefärbten Zellen des Adrenalkörpers ein polygonales Aussehen. Diese stellen Noradrenalin enthaltende Zellen dar. Dabei ist ihr Cytoplasma entweder homogen oder grobschollig schwarz angefärbt. Aus diesem Grund zeigen die Zellen im letzteren Fall ein fleckiges Aussehen. Die Noradrenalin enthaltenden Zellen liegen wahllos verstreut innerhalb der Zellhaufen des Adrenalkörpers. Etwas häufiger noch sind sie an deren Rand in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Blutgefäßen oder den Zellen des Interrenalkörpers zu finden. In ihrer Anordnung kann kein System erkannt werden. Gegenüber den ungefärbten, Adrenalin enthaltenden Zellen sind sie in der Minderzahl.

Die Zellhaufen des Interrenalkörpers können aufgrund ihres feinvakuoligen Cytoplasmas von denen des Adrenalkörpers unterschieden werden.

Lektin	Konz.	Alter	Neuronen	Adrkörper	Intkörper	Basalm.
CON A	0,02mg/ml	8 Wochen	+++	++	+++	++
CON A	0,02mg/ml	20Wochen	+++	++	+++	++
WGA	0,02mg/ml	8 Wochen	+	+++	++	++
WGA	0,02mg/ml	20Wochen	+	+++	++	++
UEA2	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
UEA2	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	+
GS2	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
GS2	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	-
RCA1	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	+	+	++
RCA1	0,1 mg/ml	20Wochen	-	+	+	++
RCA2	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	+	+	++
RCA2	0,1 mg/ml	20Wochen	-	+	+	++
PNA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	+	+	-
PNA	0,1 mg/ml	20Wochen	-	+	+	+
GS1	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
GS1	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	-
MPA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
MPA	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	-
DBA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	+
DBA	0,1 mg/ml	20Wochen	-	+	-	-
SBA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	+	-
SBA	0,1 mg/ml	20Wochen	-	+	-	-
HPA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
HPA	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	+
UEA1	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	+
UEA1	0,1 mg/ml	20Wochen	-	-	-	-

Tabelle 2: Bindungsstellen für FITC konjugierte Lektine

Lektin	Konz.	Alter	Neuronen	Adrkörper	Basalm	Intkörper
CON A	0,1 mg/ml	8 Wochen	+++	++	+	+++
CON A	0,1 mg/ml	20 Wochen	+++	++	+	+++
WGA	0,02mg/ml	8 Wochen	+	+++	++	+
WGA	0,02mg/ml	20 Wochen	+	+++	++	+
RCA 1	0,02mg/ml	8 Wochen	-	+	++	+++
RCA 1	0,02mg/ml	20 Wochen	-	+	++	+++
PNA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	+	-	+
PNA	0,1 mg/ml	20 Wochen	-	+	-	+
DBA	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
DBA	0,1 mg/ml	20 Wochen	-	-	-	-
UEA 1	0,1 mg/ml	8 Wochen	-	-	-	-
UEA 1	0,1 mg/ml	20 Wochen	-	-	-	-

Tabelle 3: Bindungsverhalten der HRP konjugierten Lektine

2. Elektronenmikroskopie

2.1. Transmissionselektronenmikroskope

2.1.1. Interrenalkörper

Übersicht

Die Zellen des Interrenalkörpers weisen eine bipolare Struktur auf. Sie sitzen mit ihrem basalen Pol der Basalmembran auf, ihr apikales Ende ist dem Pseudolumen zugewandt. Die Mehrheit der Lipidtropfen und Mitochondrien befindet sich am basalen Pol, während Golgiapparat und "dense bodies" apikal des Zellkernes liegen. Unmittelbar am apikalen Cytoplasmarand befinden sich wieder Lipidtropfen.

Mitochondrien

Die Mitochondrien haben eine unterschiedliche Gestalt. Sie können rund, oval, länglich oder tropfenförmig sein.

Die innere Membran bildet Einstülpungen, die als Cristae oder Tubuli in Erscheinung treten. Dabei können in ein und demselben Mitochondrium sowohl Cristae als auch Tubuli ausgebildet sein. Ebenso können Mitochondrien vom Cristatyp mit solchen vom Tubulustyp gemeinsam innerhalb einer Zelle vorkommen. In einigen wenigen Fällen verfügen die Mitochondrien über elektronendichte Einschlüsse oder Granula.

Endoplasmatisches Retikulum und Grundplasma

Die Zellen des Interrenalkörpers enthalten Endoplasmatisches Retikulum in reichlicher Menge. Der Haupttyp ist der des glatten endoplasmatischen Retikulums. Es besteht aus unterschiedlich langen, tubulären Strukturen, die frei im Cytoplasma liegen oder cirkulär um Mitochondrien angeordnet sind. Seltener grenzen sie die Lipidtropfen ab. Lipidtropfen, Mitochondrien und glattes endoplasmatisches Retikulum treten gemeinsam auf und bilden eine funktionelle Einheit. Rauhes ER wird seltener angetroffen und liegt in unmittelbarer Nachbarschaft zum Kern.

Das Cytoplasma besteht aus einer relativ homogenen Grundsubstanz. In ihr sind Microtubuli, Filamente und Ribosomen zu finden. Zahlreiche freie Ribosomen kommen verstreut im Cytoplasma vor. Nur an wenigen Stellen liegen sie geordnet dem Endoplasmatischen Retikulum an. Zwischen den Zellen befinden sich weite Intercellularspalten. In diese Intercellularspalten und das Pseudolumen ragen zahlreiche fingerartige Cytoplasmaausläufer.

Lipidtropfen

Lipidtropfen treten in großer Zahl im Cytoplasma aller Zellen des Interrenalkörpers auf. Die meisten Lipidtropfen besitzen eine runde oder ovale Form, eine begrenzende Membran tritt nicht auf. Zum Teil werden sie von circulären Lagen des Endoplasmatischen Retikulums umgeben. Die meisten Lipidtropfen kommen in der Mehrzahl am basalen Teil der Interrenalzellen vor, während sich die übrigen am apikalen Pol der Zellen befinden. Die Lipidtropfen am basalen Pol sind etwas größer als die am apikalen Ende. Ihr Inhalt ist bedingt durch die EM-Präparation meist nicht erhalten, so daß sie optisch leer erscheinen.

Nucleus

Die Zellkerne sind im mittleren oder basalen Drittel der Zellen gelegen. Ihre Form schwankt zwischen rund über oval bis länglich. Das Chromatin füllt im wesentlichen als lockeres Euchromatin das Kernlumen aus. Nur unmittelbar an der inneren Kernmembran oder seltener im Karyoplasma treten heterochromatische Bezirke auf.

Der Nucleolus liegt meist zentral im Kern. Die häufiger erkennbaren, wenig elektronendichten, lockeren Einschlüsse bestehen vermutlich aus Einstülpungen des Karyoplasmas.

Golgi Apparat

Der Golgi Apparat besteht aus drei bis vier Reihen abgeflachter Zisternen, die unmittelbar dem Kern kappenförmig aufsitzen oder im apikalen Cytoplasma gelegen sind. Durch ihre Lage um den Kern besitzen sie ein halbmondförmiges Aussehen. In direkter Nachbarschaft dazu befinden sich Vesikel, die elektronenoptisch leer sind oder einen mehr oder weniger dichten Inhalt besitzen. Neben diesen Vesikeln kommen "dense bodies" unterschiedlicher Größe im apikalen Cytoplasma vor.

Dense Bodies

Sie liegen im apikalen Teil des Cytoplasmas und sind von einer Membran umgeben. In unmittelbarer Nähe zum Golgi Apparat sind sie relativ kleiner und weniger dicht als in weiterer Entfernung. Einige dieser "dense bodies" haben mit Lipidtropfen Kontakt. Häufig kommen lipidähnliche oder granuläre Einschlüsse vor, die den "dense bodies" ein unterschiedliches Aussehen geben.

Zellkontakte

Die Zellen des Interrenalkörpers werden von einer Basalmembran umgeben. Zwischen den Zellen besteht nur ein lockerer Zusammenhalt. Sie sind durch weite Intercellularspalten getrennt. Unterhalb der Basalmembran sind die Zellmembranen durch Zonulae occludentes verbunden.

Neben den Zonulae occludentes können Zonulae adhaerentes und Desmosomen ähnliche Strukturen zur Aufrechterhaltung des Zellkontaktes auftreten. Das Pseudolumen wird häufig von den Intercellularspalten durch Zonulae occludentes abgegrenzt.

Zellen des Interrenalkörpers und des Adrenalkörpers werden durch eine zwischen ihnen verlaufende Basalmembran abgetrennt.

2.1.2. Adrenalkörper

Übersicht

Das Aussehen von Zellen des Adrenalkörpers varriert stark. Neben runden bis ovalen Zellen finden sich auch nahezu rechteckige bis längliche Zellformen. Sie sind oft durch Ausläufer von Bindegewebe voneinander getrennt. Aufgrund der Struktur der Granula können zwei Arten von Zellen unterschieden werden.

- 1.) Zellen, die Granula enthalten, die keine oder, wenn sie tangential getroffen sind, eine grobschollige Substruktur bilden, werden Noradrenalin produzierenden Zellen zugerechnet. Sie besitzen einen kompakten Kern, der von einem hellen Hof umgeben wird und sie als teilweise unfixiert erscheinen läßt.
- 2.) Zellen dagegen, deren Granula aus einer feingranulären Substruktur bestehen, die eine sie umgebende Membran vollständig ausfüllen, sind das Kennzeichen Adrenalin produzierender Zellen.

Nucleus

Die Kerne der Zellen des Adrenalkörpers sind rund bis oval. Die Kernmembran zeigt im Vergleich zu den Zellen des Interrenalkörpers nur leichte, wellige Einziehungen. Das Chromatin ist locker strukturiert. An der inneren Kernmembran lagert sich dichteres Heterochromatin an. Der Nucleolus ist deutlich ausgebildet und liegt teils im Zentrum, teils in der Peripherie des Kernes. Die Kerne von Adrenalin und Noradrenalin produzierenden Zellen können nicht unterschieden werden.

Golgi Apparat

Der große Golgiapparat liegt in direkter Nachbarschaft zum Kern. Er besteht aus drei bis vier Lagen abgeflachter Zisternen, von deren Ende sich zahlreiche Vesikel abschnüren. Diese können unterschiedlich groß sein. Die größten unter ihnen erreichen die Größe großer Sekretgranula. Die kleineren überwiegen zahlenmäßig. Sie sind meist mit unterschiedlich elektrodichtem Material gefüllt, so daß ihr Aussehen zwischen optisch leer, locker gefüllt, mäßig kondensiert bis stark kondensiert schwankt. Einige Vesikel wirken wie dilatierte Enden der Zisternen.

Endoplasmatisches Retikulum und Grundplasma

Die Zellen des Adrenalkörpers enthalten sowohl glattes als auch rauhes endoplasmatisches Retikulum. Von diesen beiden Formen überwiegt das rauhe ER. Bei Adrenalin produzierenden Zellen liegen die Zisternen verstreut im Cytoplasma. Bei Noradrenalin produzierenden Zellen ist das rER in der Peripherie der Zelle oder um den Kern herum konzentriert. Dabei sind bei einigen Zellen zueinander parallel verlaufende Stränge des Endoplasmatischen Retikulums in mehreren Reihen hintereinander angeordnet. Dies wurde bei Adrenalin produzierenden Zellen nicht beobachtet. Freie Ribosomen liegen zahlreich im Grundplasma. Weiter finden sich Microtubuli und Filamente im Hyaloplasma verstreut.

Mitochondrien

Sie sind in den Zellen des Adrenalkörpers weniger zahlreich vorhanden als in denen des Interrenalkörpers. Ihre Form ist rund bis länglich und ihre innere Membran bildet Cristae aus. Sie sind vor allem um den Kern, in der Nähe des Golgi Apparates und am Cytoplasmarand gelegen.

Granula

Adrenalinhaltige Granula nehmen viele Formen an. Sie sind birnen-, hantel-, oder keulenförmig bis rundlich oder oval. Ihre Größe kann deswegen nicht genau angegeben werden. Die Dichte dieser Granula ist sehr unterschiedlich. In manchen Fällen ist ihr Inhalt sehr wenig elektronendicht, in der Mehrheit jedoch sind sie kaum weniger osmiophil als Noradrenalingranula. Sie füllen die sie umgebende Membran vollständig aus. Die Granula bestehen aus feinen Subgranula.

Im Gegensatz dazu ist der Inhalt der Noradenalin Granula so dicht, daß Details der grobscholligen Substruktur nur bei tangentialer Schnitfführung erkennbar sind. Sie füllen den Raum innerhalb ihrer Membran selten vollständig aus. Daher ist die zentrale Verdichtung häufig von einem hellen Hof umgeben. Dieser ist manchmal so groß, daß die zentrale Verdichtung nicht im Schnittbild erscheint. Ihr Aussehen ist rund bis oval. Ausnahmsweise können unreife Noradrenalin Granula aus der Golgi Region eine ähnliche Substruktur wie Adrenalin Granula aufweisen. Darüberhinaus existieren Zellen, die aufgrund der in ihnen vorkommenden Granulaformen sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin produzierenden Zellen zugerechnet werden können.

Dense Bodies

"Dense bodies" sind häufig größer als sekretorische Granula. Sie sind von einer Membran umgeben. Ihr Inhalt ist heterogen. In einem homogenen Grundplasma liegen elektronendichte Massen, Membranen oder vakuolige Einschlüsse. "Dense bodies" wurden seltener als in den Zellen des Interrenalkörpers beobachtet.

Zellkontakte

Die Zellhaufen des Adrenalkörpers werden von einer deutlichen Basalmembran umgeben. Vereinzelt ziehen von den Basalmembranen ausgehende bindegewebige Septen zwischen die Zellen des Adrenalkörpers. Sie enthalten Kollagenfasern, Axone und vereinzelt Fibrozyten. Die zahlreichen Nervenfasern dringen in das Parenchym ein und bilden an den Zielzellen Synapsen aus. Die Zellen sind untereinander durch lange Zonulae occludentes und vereinzelt Desmosomen verbunden. Die Zellmembrankontakte können durch zwischen benachbarten Zellen auftretende kleine Kapillaren oder Axone unterbrochen sein.

2.1.3. Kapillaren

Die Kapillaren sind sehr weit und bilden große Sinus aus, die die Zellstränge des Adrenalkörpers und Interrenalkörpers umgeben. Ihr Endothel liegt locker auf der darunter liegenden Basalmembran. Entlang der Zellen des Adrenalkörpers ist die Basalmembran stärker entwickelt und kann von

Bindegewebe unterlagert sein. In diesem Fall liegt den Adrenalzellen eine eigene Basalmembran an. Entlang der Interrenalzellen ist die Basalmembran der Kapillaren seltener von bindegewebigen Zügen oder Nerven unterlagert. In einigen Fällen scheinen die Basalmembranen von Interrenalzellen und Kapillaren ineinander überzugehen.

Die Kerne der Endothelzellen wölben sich weit in das Lumen vor. Ihre dünnen Cytoplasmafortsätze formen das Kapillarbett. Sie weisen in kurzen Abständen deutliche Fenestrationsen auf, die durch ein Diaphragma verschlossen sind.

An einigen Stellen befinden sich Ausstülpungen des Endothelsaumes, die kreisförmig in das Lumen vorragen. Ihre begrenzende Membran weist durch ein Diaphragma verschlossene Fenestrationsen auf, ihr Inhalt ist elektronenoptisch leer. An der transluminalen Seite können sie von der Basalmembran durch schmale Cytoplasmasäume oder Fenestrationsen abgegrenzt sein.

2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Die Nebenniere der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) wird an ihrer ventralen Seite durch zwei Äste der A. *adrenalis ventralis* versorgt. Zusätzlich erhält die dorsale Seite ihre Blutzufuhr durch ein kleineres Gefäß, die A. *adrenalis dorsalis*, das sich ebenfalls in zwei Äste teilt. Diese Gefäße teilen sich an der Oberfläche weiter auf und umfassen das Organ netzartig in groben Zügen. Durch seitliche Aufzweigungen wird ein feineres, oberflächliches Netz geschaffen. Aus diesen stammen die weitlumigen Kapillaren, die fast rechtwinklig in die Tiefe des Organes ziehen. Sie bilden ein dichtes Maschenwerk, das die in den Lücken gelegenen Zellhaufen des Adrenalkörpers und des Interrenalalkörpers umschließt. Sie sind reich verzweigt und kommunizieren durch zahlreiche Anastomosen.

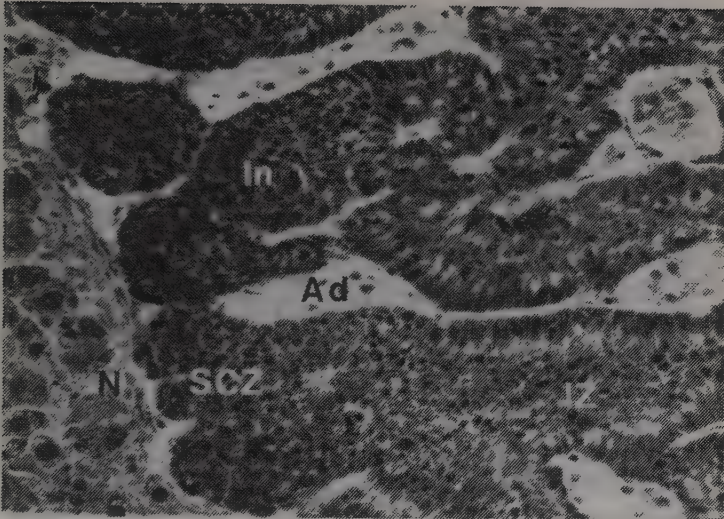


Abb. 1: Nachweis von WGA-BS, FITC. In den Interneuralzellen des SCZ treten Bindungsstellen fleckförmig am Kern auf. In der IZ ist die Fluoreszenz am Kern deutlich ausgeprägt. Die Intensität nimmt mit zunehmender Entfernung vom Kern ab. In den Neuronen erfolgt eine grobschollige Bindung, die zirkulär um den Kern angeordnet ist. x 375

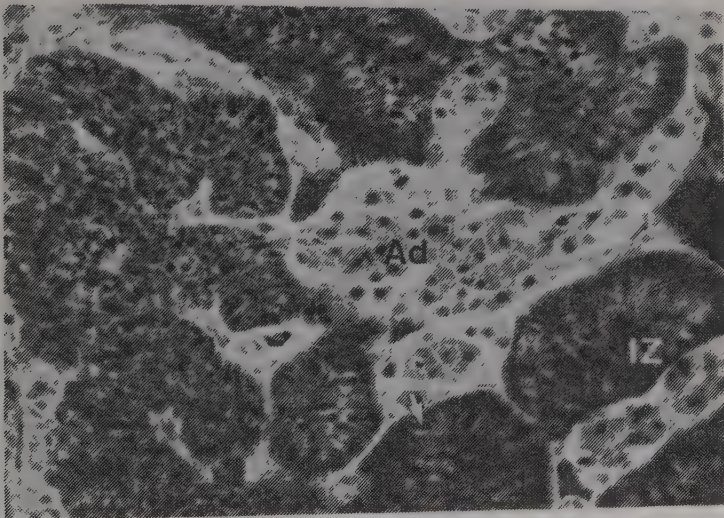


Abb. 2: Nachweis von WGA-BS, FITC. Die punktförmige Bindung in den Interneuralzellen der SCZ verliert sich in der IZ. Die Basalmembran der Zellstränge der Interneuralzellen wird dargestellt. Im Cytoplasma der Interneuralzellen tritt eine diffuse Reaktion auf. Diese ist bei einigen Zellen in der Golgi Region verstärkt (Pfeil). x 375

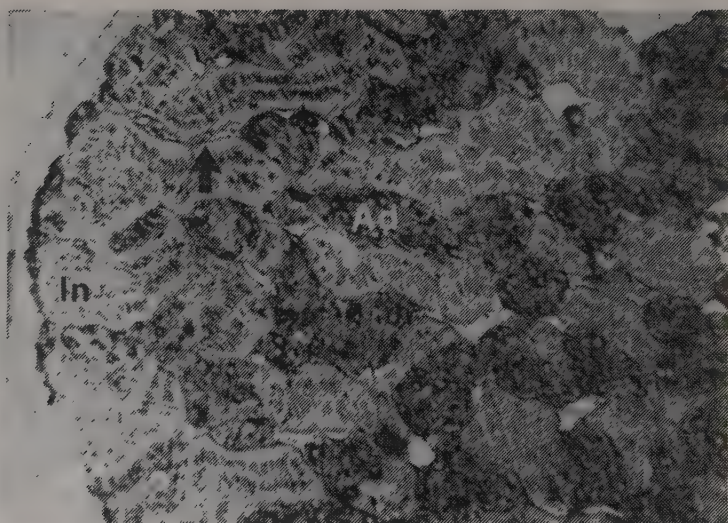


Abb.3: Nachweis von WGA-BS, HRP. In den Zellen des Interrenalkörpers treten in der SCZ und im unmittelbar daran anschließenden Bereich der IZ in der Golgi Region gelegene Bindungsstellen auf. Die Basalmembran der Zellstränge des Interrenalkörpers wird dargestellt (Pfeil). x 300

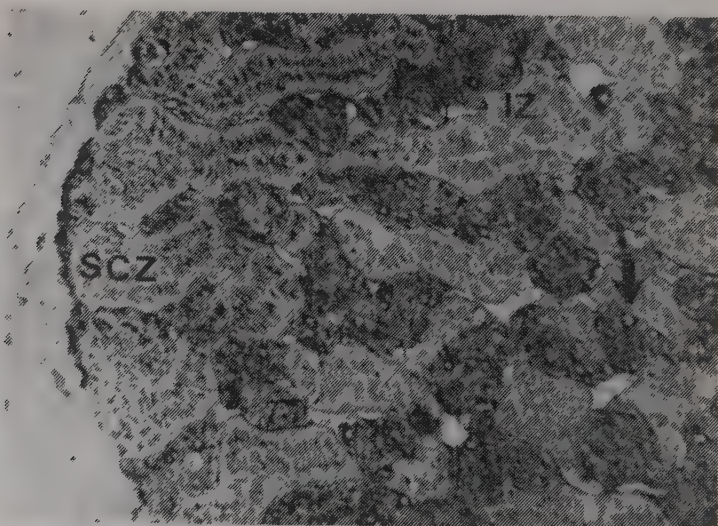


Abb.4 Nachweis von WGA-BS, HRP. Im Cytoplasma der Zellen des Adrenalkörpers manifestiert sich eine diffuse, feingranuläre Bindung. Sie ist bei einzelnen Zellen generell oder speziell in der Golgi Region verstärkt. x 480

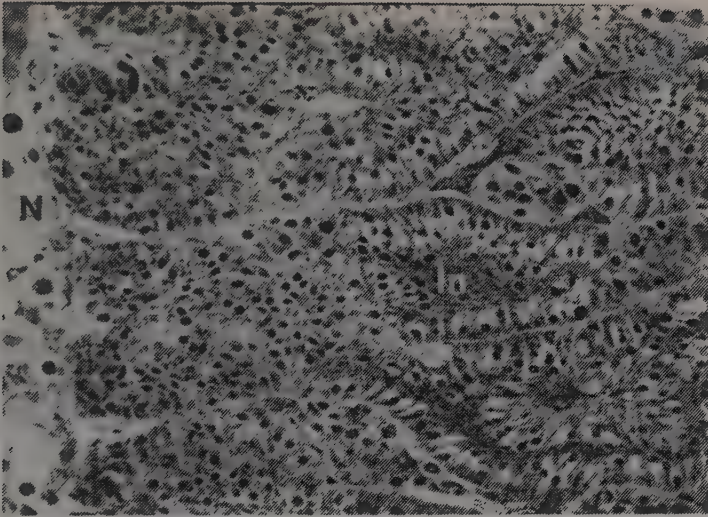


Abb.5: Nachweis von CON A-BS, FITC. Neben einer diffusen Reaktion des Cytoplasmas tritt in den Zellen des Interrenalkörpers eine Intensivierung um den Kern auf. Sie bleibt in der SCZ auf die Golgi Region beschränkt. In der IZ strahlt sie in das Cytoplasma aus. x 375

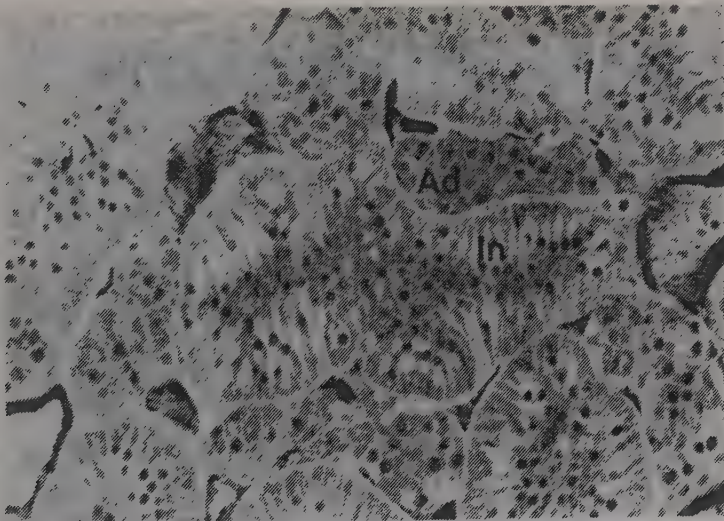


Abb.6: Nachweis von CON A-BS, FITC. Die Basalmembranen der Zellhaufen des Interrenalkörpers werden dargestellt. Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen eine unterschiedlich starke, diffuse Fluoreszenz, die bei einigen Zellen am Kern verstärkt ist. x 375

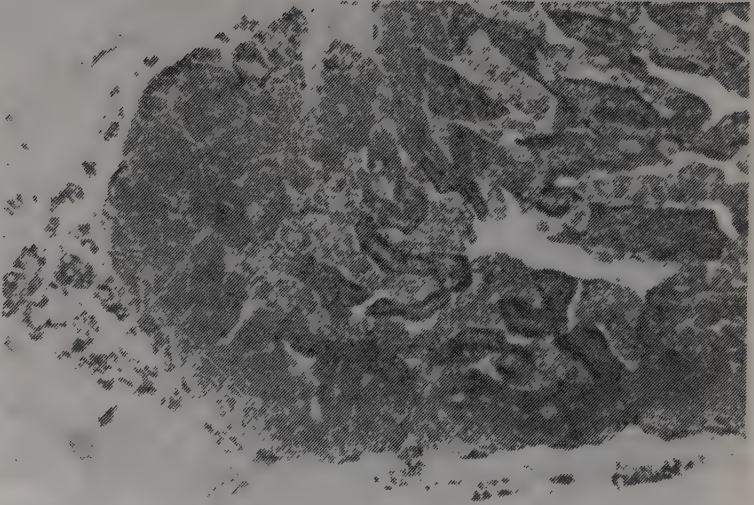


Abb.7: Nachweis von CON A-BS, HRP. Die Intensität der Lektinbindung ist in den Zellen des Interrenalkörpers erheblich stärker als in den Zellen des Adrenalkörpers. x 120

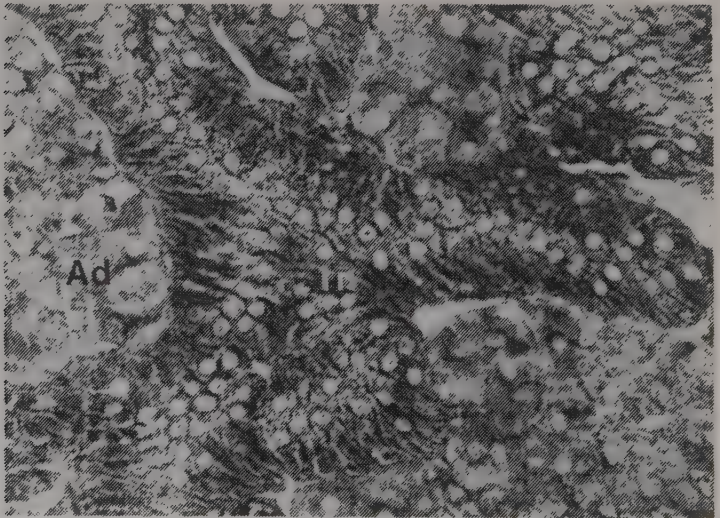


Abb.8: Nachweis von CON A-BS, HRP. Die Bindungsintensität nimmt in den Zellen des Interrenalkörpers mit zunehmendem Abstand vom Kern ab. Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen generell ein schwaches, diffuses Bindungsverhalten. x 480

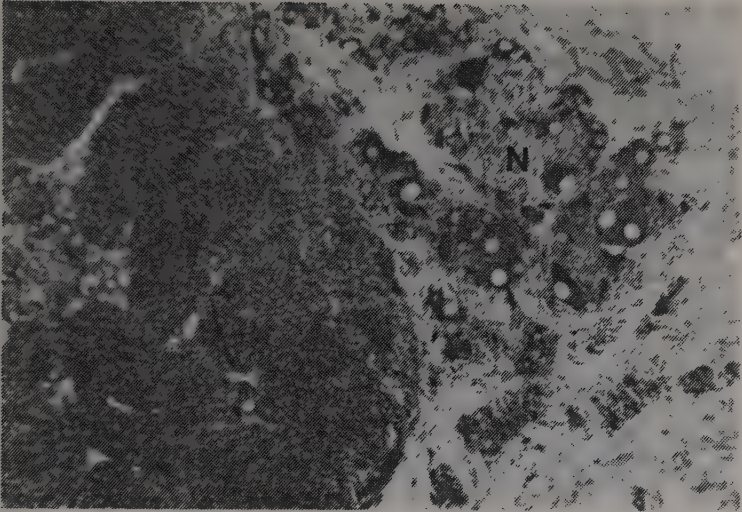


Abb. 9: Nachweis von CON A-BS, HRP. Die in der Organkapsel gelegenen Neuronen zeigen im gesamten Cytoplasma eine sehr kräftige, homogene Bindungsreaktion. x 300

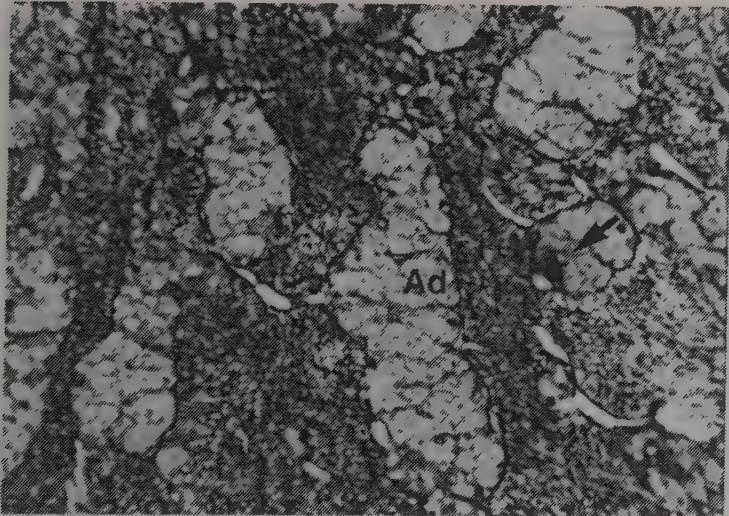


Abb. 10: Nachweis von RCA I-BS, HRP. Neben einer homogenen Anfärbung des Cytoplasmas der Interrenalzellen ist eine Verstärkung in der Golgi Region zu erkennen. Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen nur vereinzelt ein positives Lektinbindungsverhalten (Pfeil). x 480

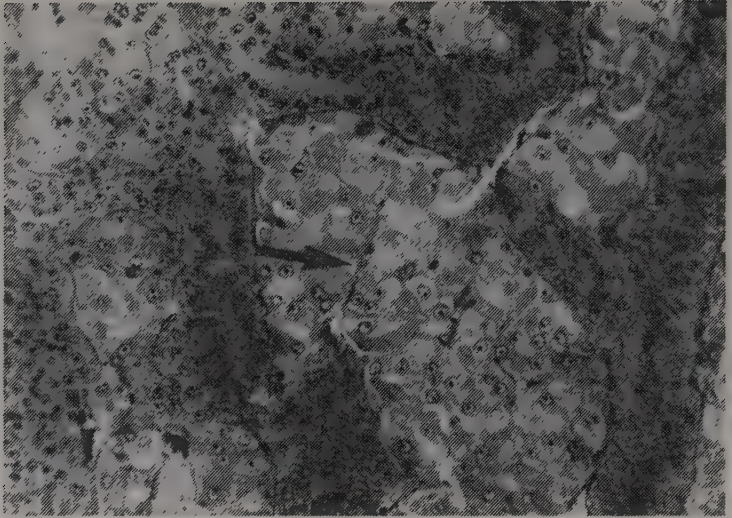


Abb. 11: Die Zellhaufen werden von einem bindegewebigen Gerüst umgeben. Dünne Fasern ziehen zwischen die einzelnen Zellen des Adrenalkörpers (Pfeil). Azan Färbung, x 480

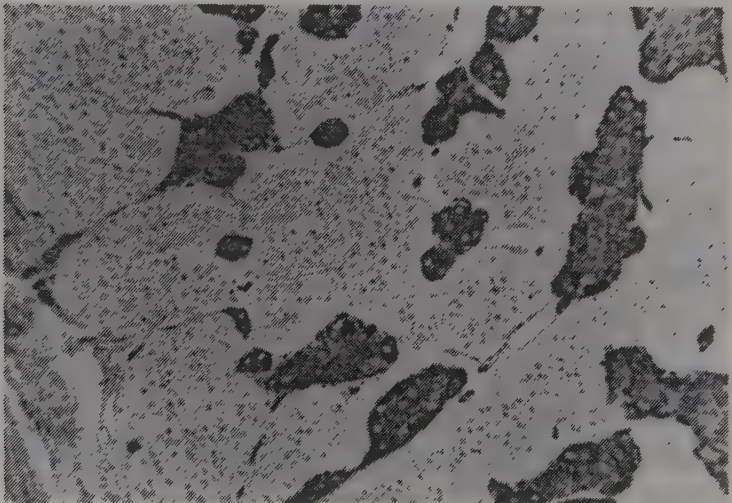


Abb. 12: Die Adrenalzellen verhalten sich argaffin. Sie heben sich deutlich von den ungefärbten Interrenalzellen ab. Ag-Imprägnation nach Bodian, x 300

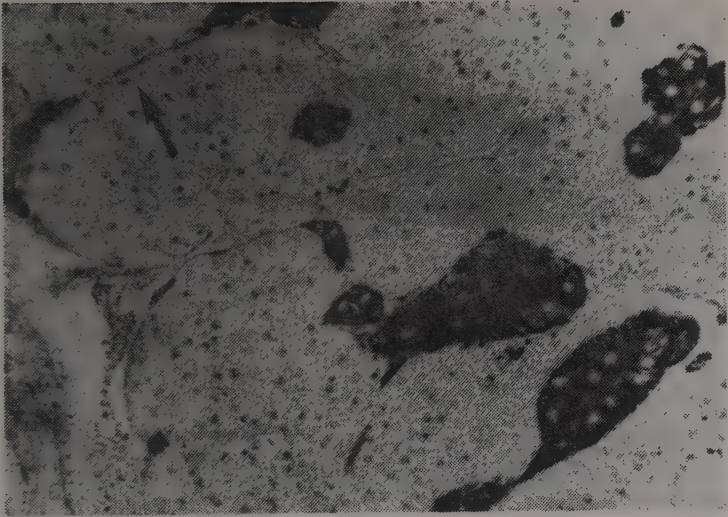


Abb. 13: Zarte argaffine Fasern ziehen in das Organinnere (Pfeil). Ag-Impragnation nach Bodian, x 480

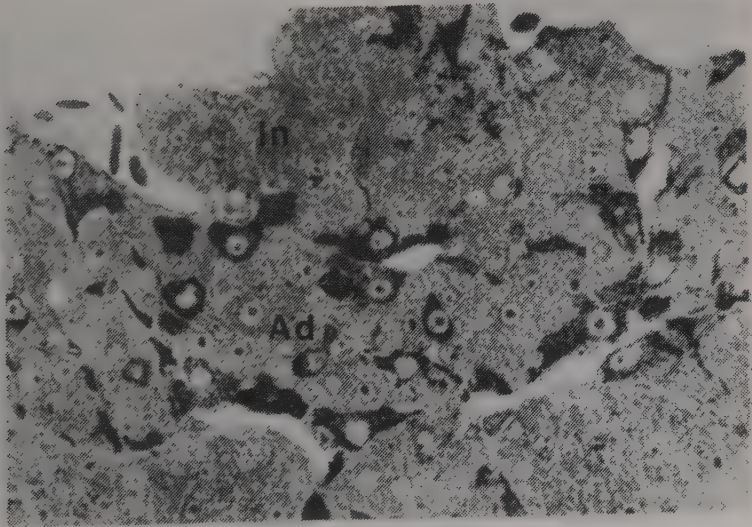


Abb. 14: Die schwarz gefärbten Zellen stellen Noradrenalin produzierende Zellen dar. Adrenalin produzierende Zellen werden nicht gefärbt. Die Zellhaufen des Interrenalkörpers können aufgrund ihres feinvakuolligen Cytoplasmas von denen des Adrenalkörpers unterschieden werden. Argaffine Reaktion nach Böck, x 800.



Abb. 15: Eine zentral gelegene Kapillare wird von Zellen des Adrenalkörpers umgeben. Adrenalin und Noradrenalin produzierende Zellen können aufgrund der Struktur ihrer Granula unterschieden werden. TEM, x 9000

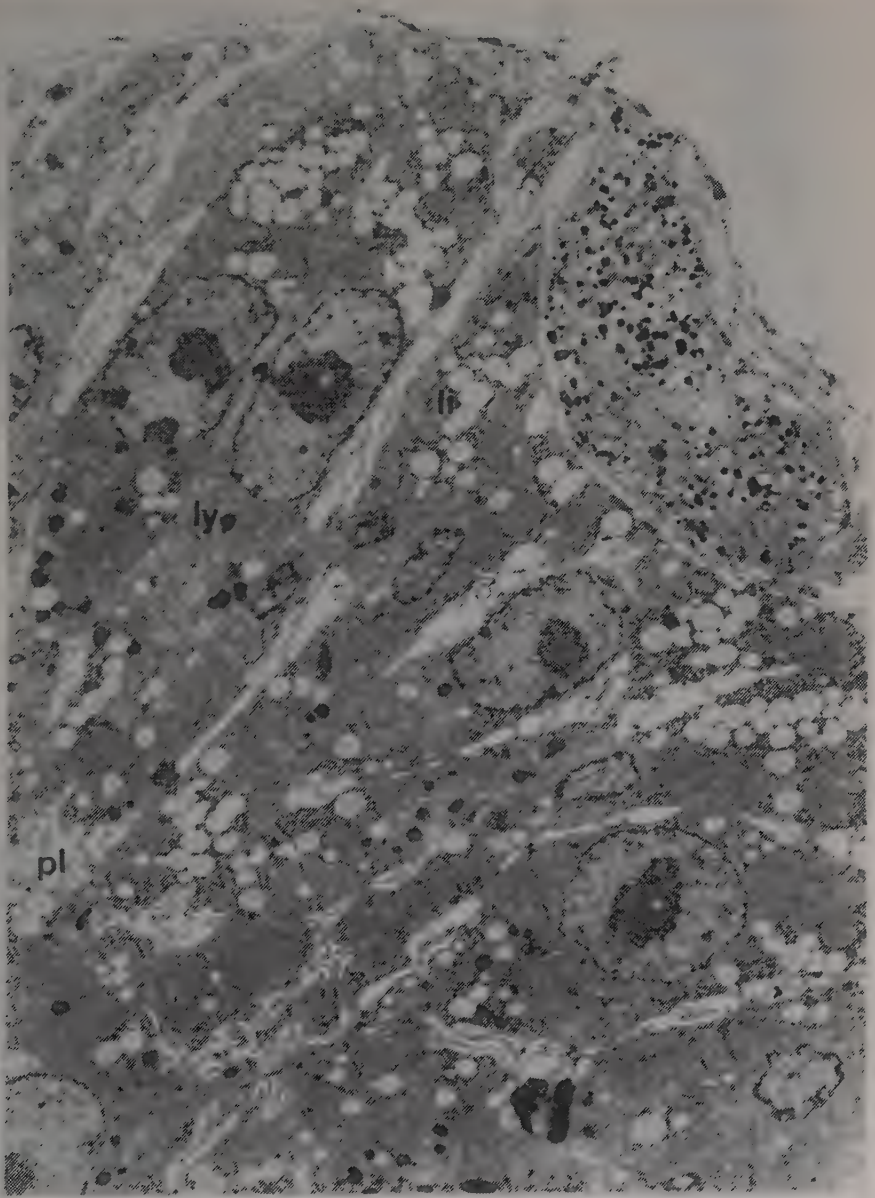


Abb. 16: Die Zellen des Interrenalkörpers weisen eine bipolare Struktur auf. Die Lysosomen oder "dense bodies" liegen apikal des Zellkernes und sind dem Pseudolumen zugewandt. Zwischen den Interrenalzellen befinden sich weite Interzellularspalten. TEM, x 9000

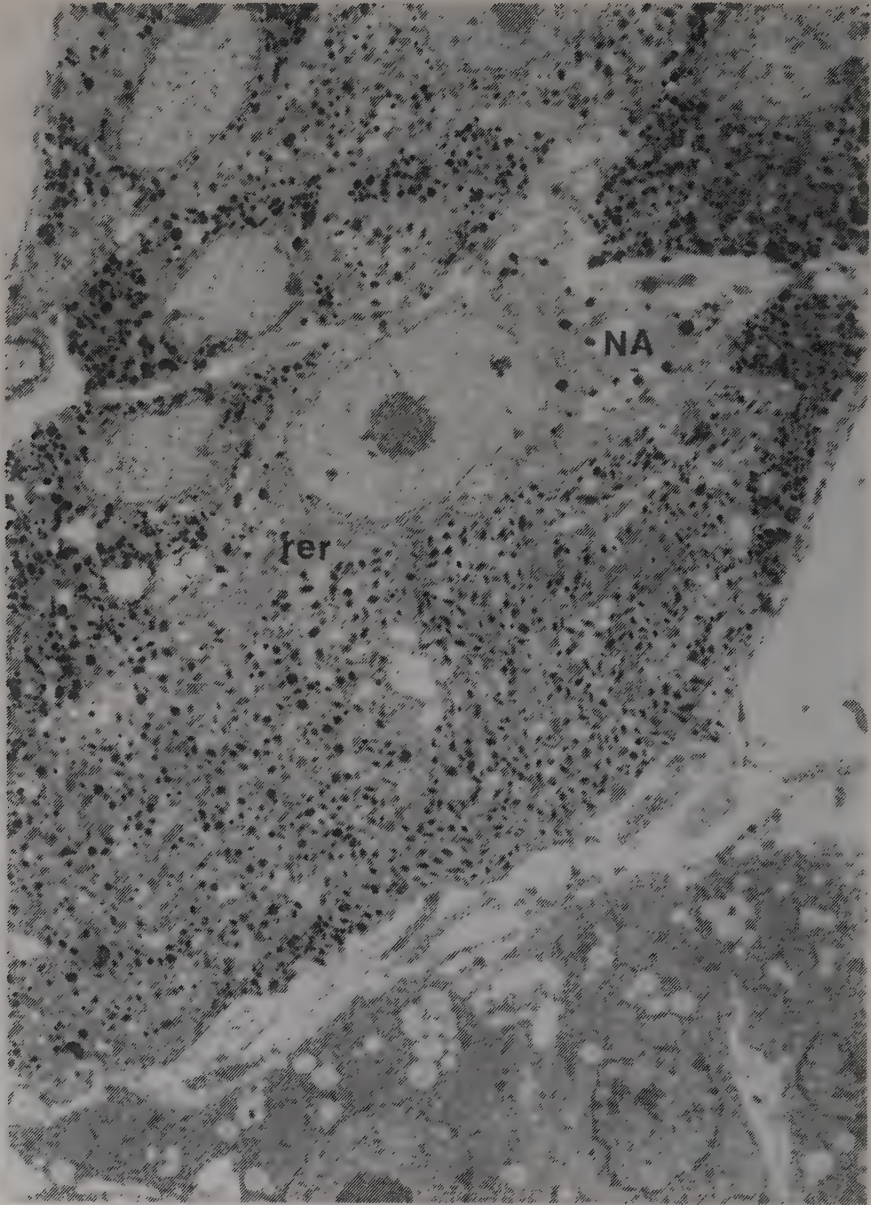


Abb.17: In der Bildmitte ist eine Noradrenalin Granula enthaltende Zelle des Adrenalkörpers gelegen. Parallel verlaufende Zisternen rauhen endoplasmatischen Retikulums sind in mehreren Reihen hintereinander angeordnet. TEM, $\times 9000$

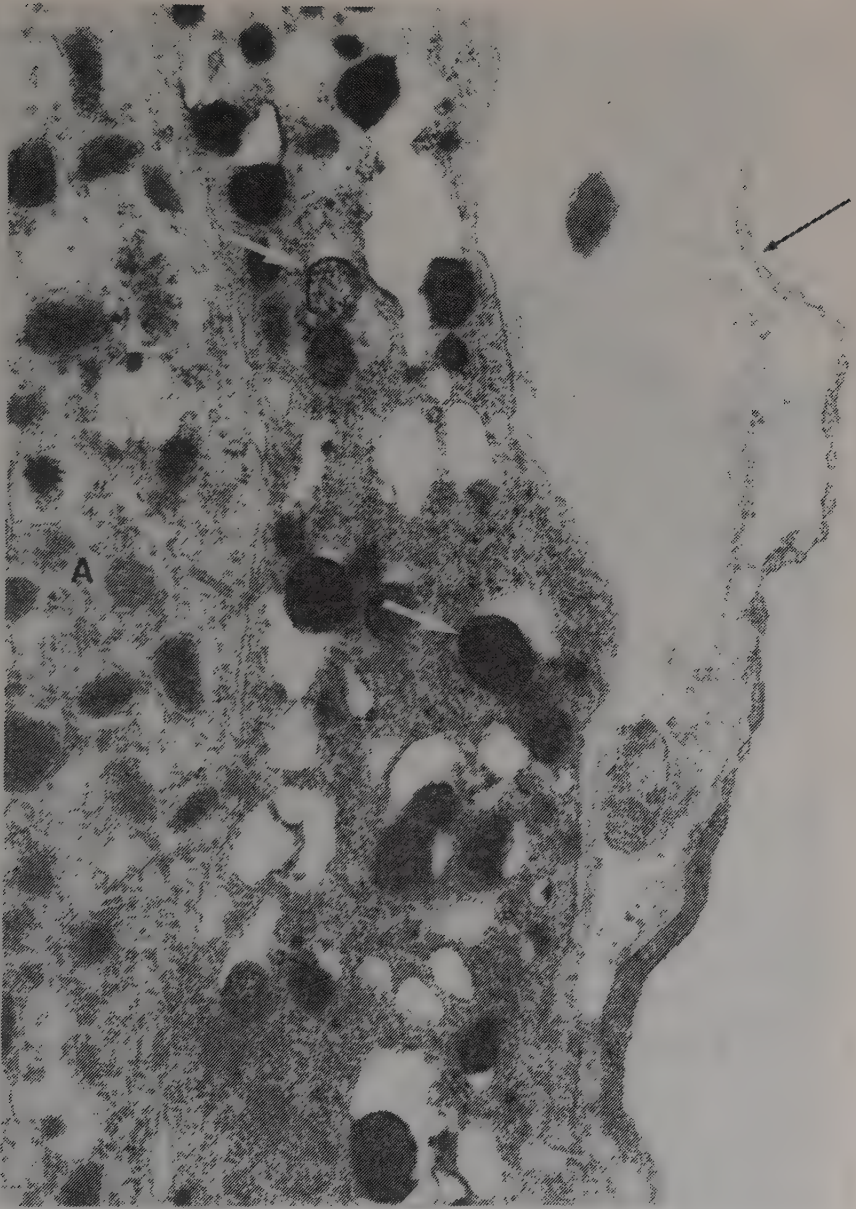


Abb. 18: Links das Cytoplasma einer Adrenalin Granula enthaltenden Zelle. Der rechte Cytoplasmaausläufer enthält Adrenalin und Noradrenalin spezifische Granula. Das Kapillarlumen ist reich fenestriert. TEM, x 60000

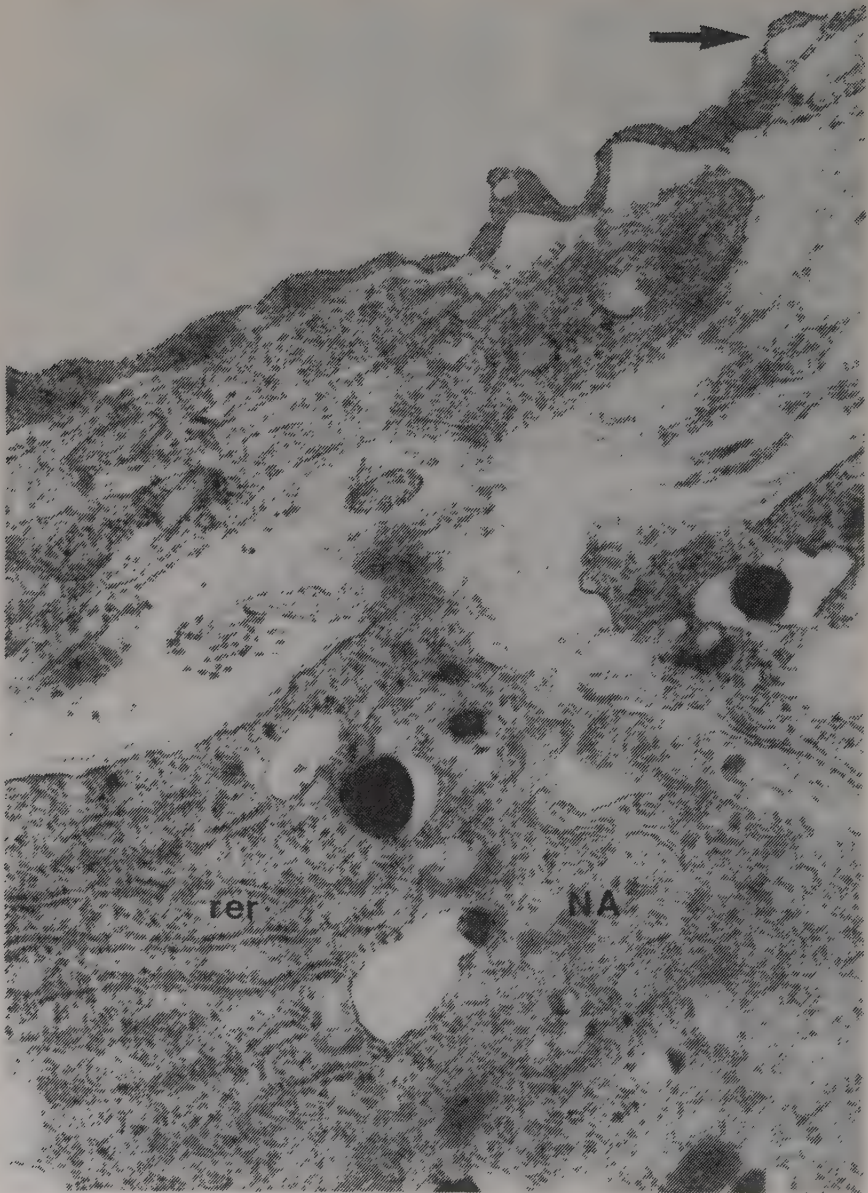


Abb. 19: Noradrenalin Granula enthaltende Zelle. Die Zisternen des mehrreihigen rauhen endoplasmatischen Retikulums sind nahe der Zellmembran gelegen. Am rechten oberen Bildrand wölbt sich eine einer "endothelial pocket" ähnliche Struktur des Endothels in das Kapillarlumen vor (Pfeil). TEM, x 60000

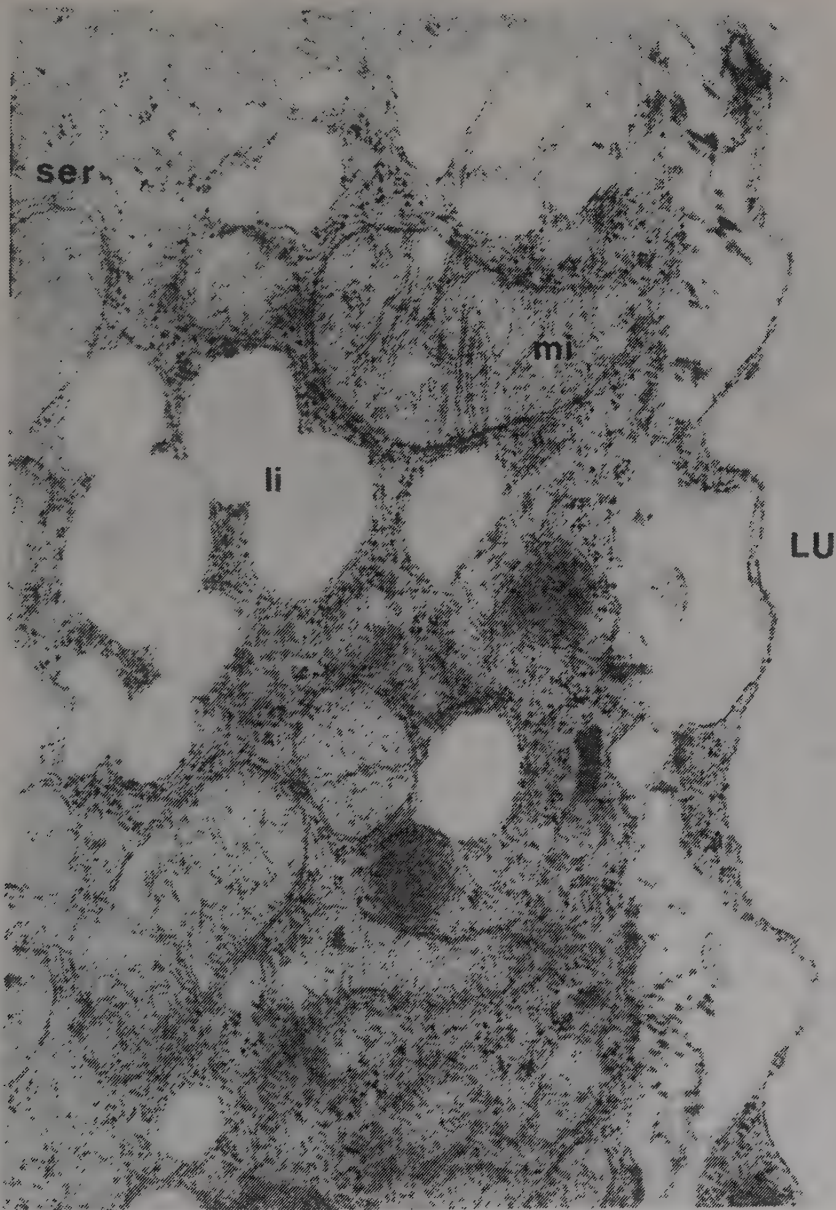


Abb.20: Ultrastruktur des basalen Poles einer Interrenalzelle. Lipidtropfen, Mitochondrien vom Cristatyp und glattes endoplasmatisches Retikulum liegen dicht nebeneinander. TEM x 60000

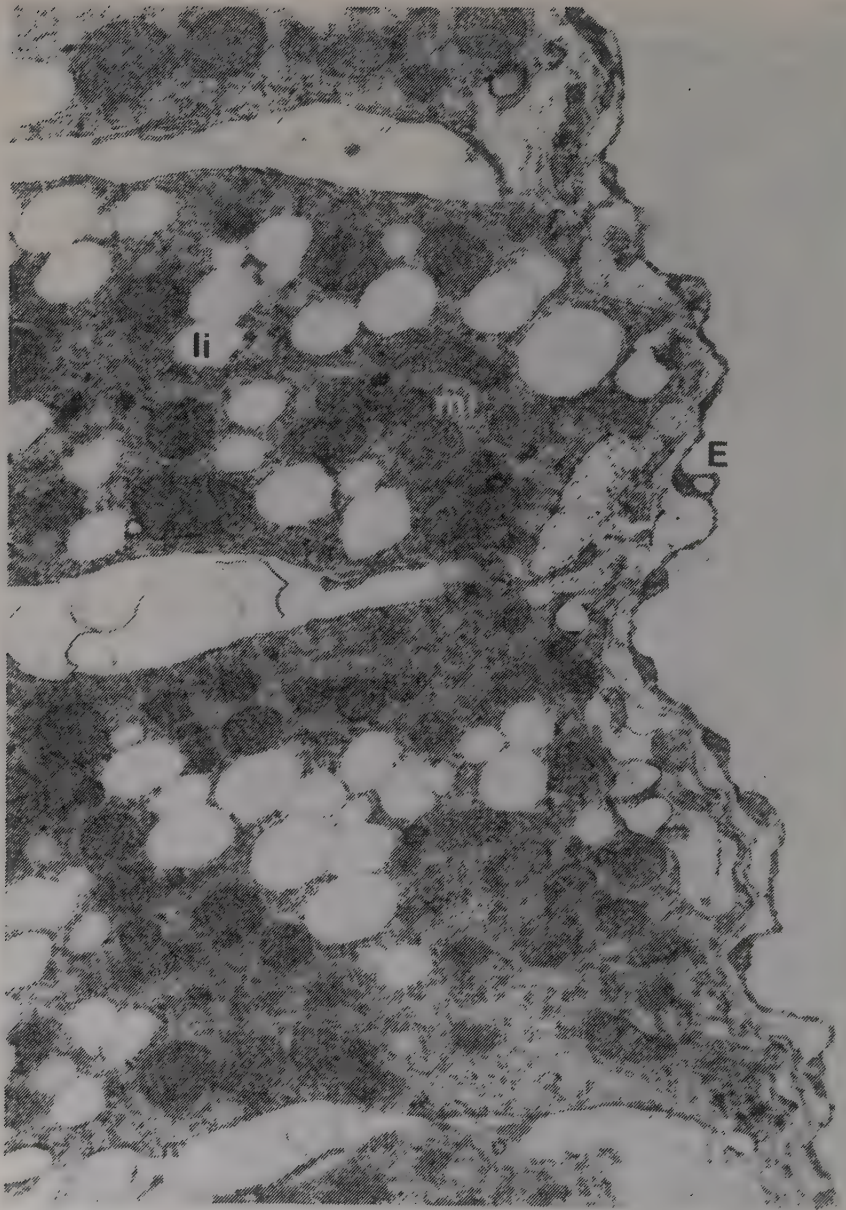


Abb. 21: Ultrastruktur des basalen Poles zweier Interrenalzellen. Sie enthalten zahlreiche Mitochondrien vom Tubulustyp. TEM x 30000

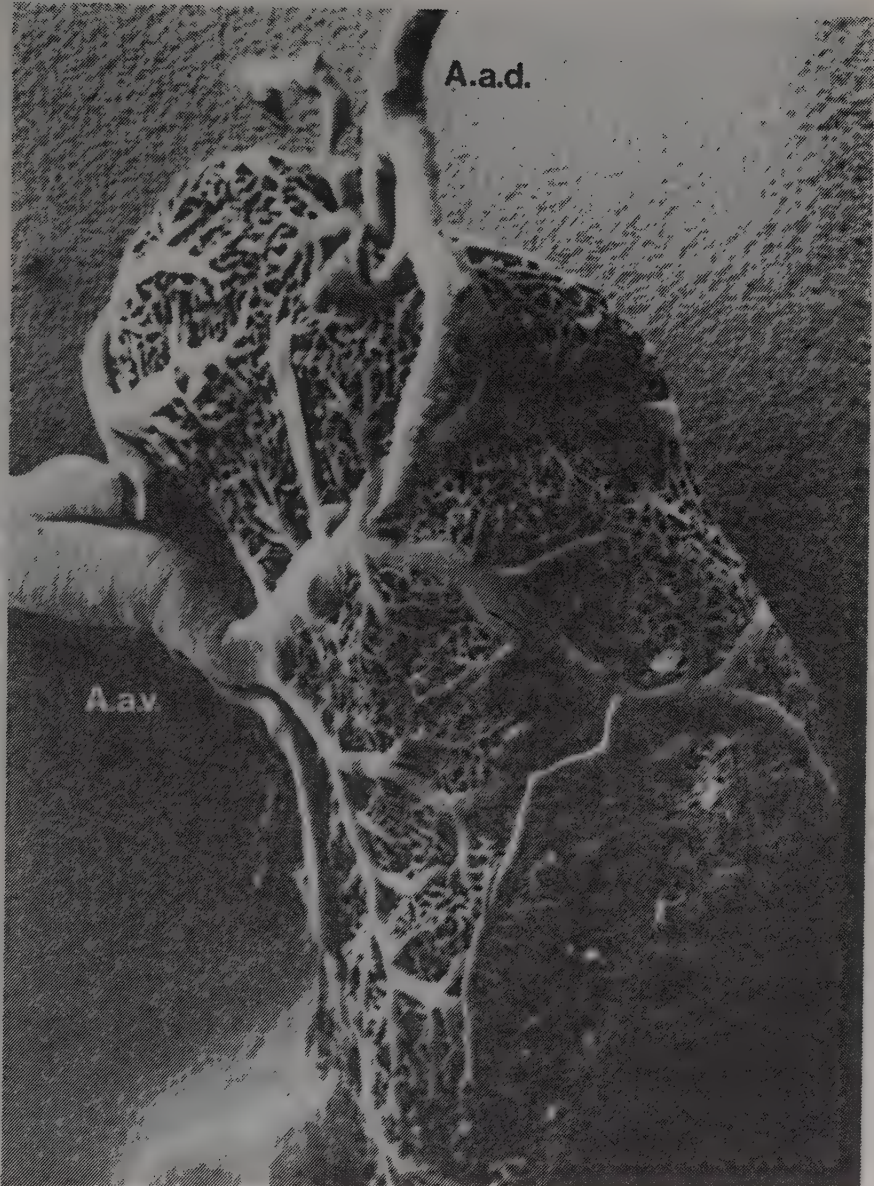


Abb.22: Die Äste der A. adrenalis ventralis und die A. adrenalis dorsalis teilen sich an der Organoberfläche. REM x 180



Abb.23: Ihre Verzweigungen bilden ein dichtes, oberflächliches Gefäßnetz. Die daraus entspringenden Kapillaren ziehen fast rechtwinklig in die Tiefe des Organs. REM x 360

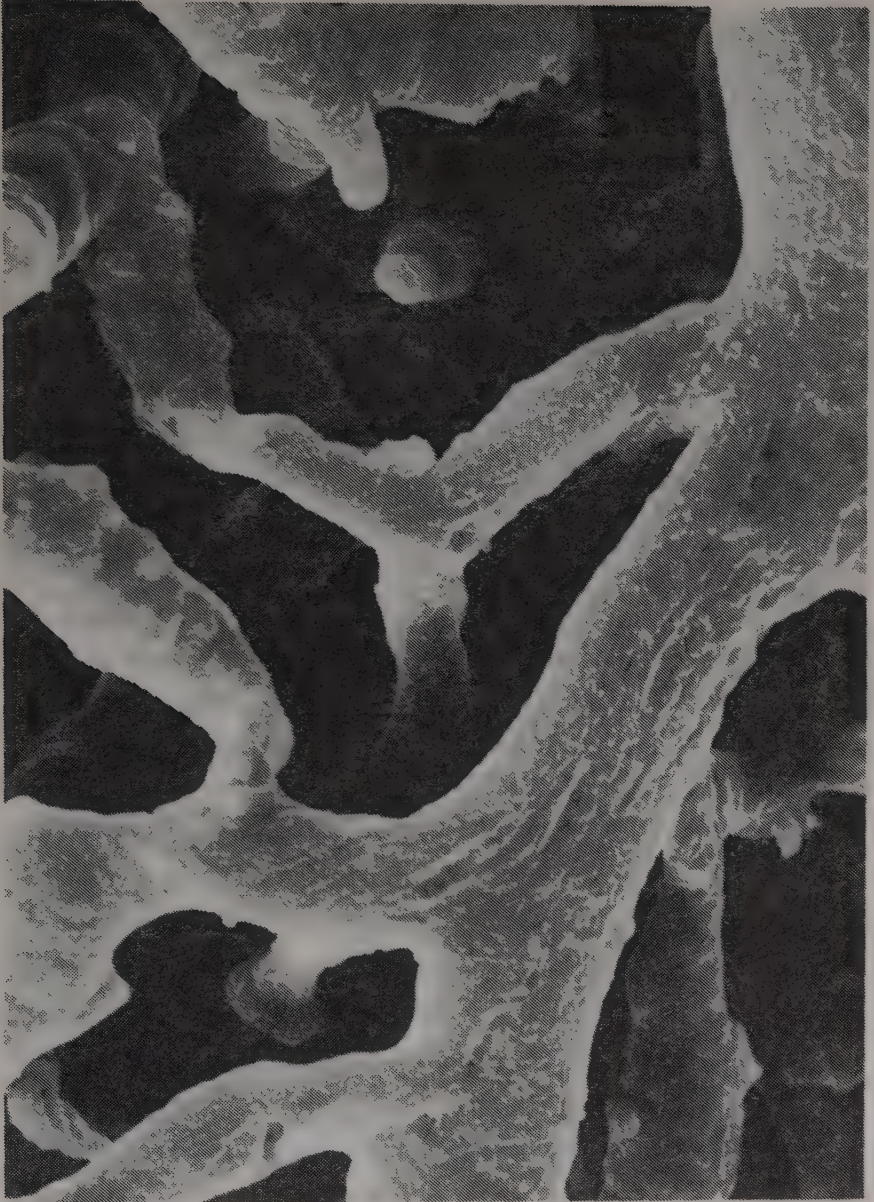


Abb.24: Die Kapillaren bilden ein enges Maschenwerk, das die in den Hohlräumen gelegenen Zellhaufen des Adrenal- und des Interrenalkörpers umgibt. REM x 3750

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A	Adrenalin Granula enthaltende Zelle
A.a.d.	Arteria adrenalis dorsalis
A.a.v.	Arteria adrenalis ventralis
Ad	Adrenalzelle
BS	Bindungsstelle
CA	Kapillare
E	Endothel
FITC	Fluorescein Isothiocyanat
HRP	Horseradishperoxidase
In	Interrenalzelle
IZ	Innere Zone
li	Lipid Tropfen
LU	Lumen
ly	Lysosom
mi	Mitochondrium
	Pseudolumen
N	Neuron
NA	Noradrenalin enthaltende Zelle
rer	rauhes endoplasmatisches Retikulum
SCZ	Subcapsuläre Zone
ser	glattes endoplasmatisches Retikulum

Diskussion

Schon in den lichtmikroskopischen Untersuchungen war bei den Nebennieren der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) der allen Vogelarten gemeinsame Grundaufbau dieses Organs klar erkennbar: Von einer Kapsel umgeben liegen die das Parenchym bildenden Stränge des Adrenal- und des Interrenalkörpers ineinander verwoben vor. Von bindegewebigen Fasern begleitete Blutgefäße bilden innerhalb des Organs ein feinmaschiges Kapillarnetz aus, das die Parenchymstränge unmittelbar umgibt.

Durch die Knäuelbildung der Stränge des Interrenalkörpers unterhalb der Organkapsel liegt bei der japanischen Wachtel eine deutliche Aufteilung des Nebennierenrindengewebes in eine subcapsuläre und eine innere Zone vor. Diese sind aufgrund ihrer glomerulären bzw. pseudotubulären Struktur der Zona glomerulosa bzw. der Zona reticularis der Säugernebennieren äquivalent. Dies stimmt mit dem Befund von Bhattacharyya et al. (1972) überein, die in einer vergleichenden Arbeit die Nebennieren von 22 Vogelarten untersuchten, und bei Taube, Wachtel, Flamingo und Wellensittich eine deutliche Zonierung festgestellt hatten. Eine deutliche Zonierung des Interrenalgewebes hatten ebenfalls Feder (1971) beim Wellensittich und Müller (1929) beim Huhn beobachtet.

Die Maße für den Kerndurchmesser bei den Interrenalzellen der japanischen Wachtel betrugen $5\text{ }\mu\text{m}$, für den Zelldurchmesser bei den nahezu runden Interrenalzellen der subcapsulären Zone $9 - 12\text{ }\mu\text{m}$ und bei den hochprismatischen Zellen der inneren Zone $15 - 30\text{ }\mu\text{m}$. Feder (1971) und Müller (1929) hatten bei Wellensittich, Huhn und Taube vergleichbare Werte erzielt.

Die zwischen den Strängen des Interrenalkörpers liegenden Zellhaufen des Adrenalkörpers werden bei der japanischen Wachtel von einem deutlichen bindegewebigen Netz umgeben, von dem einzelne feine Fäserchen zwischen die einzelnen Adrenalzellen ziehen. Dies wurde weder in der vergleichenden Arbeit von Unsicker (1973a), der Nebennieren von 15 Vogelarten, noch von Dutta und Ghosh (1964), die die Nebennieren von 12 Vogelarten untersucht hatten, erwähnt. Allerdings gehörte die Wachtel bei beiden Arbeiten nicht zu den untersuchten Vogelarten, so daß es sich um eine spezifische Eigenheit dieser Vogelart handeln kann. Dieser lichtmikroskopische Befund konnte in der elektronenmikroskopischen Darstellung bestätigt werden.

Eine von meinen Befunden abweichende Beschreibung der Nebenniere der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) gibt Fitzgerald (1969) in seinem Buch "The Coturnix Quail - Anatomy and Histology". Er stellt die Zellstränge des Interrenalkörpers als Tubuli mit sehr weitem Lumen dar. Dieses Lumen wird von einem blutgefülltem Sinus ausgefüllt, dessen Endothel durch eine Basalmembran von den begrenzenden Interrenalzellen getrennt wird. Eine Trennung des Interrenalkörpers in eine subcapsuläre und eine innere Zone tritt nicht auf. Die Zellhaufen des Adrenalkörpers werden zusammen mit sympathischen Ganglienzellen als kompaktes Gewebeelement, das den Raum zwischen den Tubuli der Interrenalzellen ausfüllt und von wenigen Kapillaren mit geringem Lumen durchzogen wird, dargestellt. Dies widerspricht auch dem Bild bei anderen Vogelarten.

Bei der PAS Färbung werden benachbarte Glykolgruppen durch die Perjodsäure in Aldehydgruppen umgewandelt. Diese können durch das Schiff's Reagenz nachgewiesen werden. Substanzen, deren Glykolgruppen blockiert sind, wie zum Beispiel bei Mucopolysacchariden durch Sulfatgruppen, werden mit dieser Färbung nicht erfaßt. Diese werden durch die Färbung mit Alcianblau dargestellt (Romeis, 1968).

Die Nebennieren der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) zeigen in der PAS Färbung nach Mc Manus eine deutliche Anfärbung der die Zellstränge des Interrenalkörpers umgebenden Basalmembran. Die Interrenalzellen selbst färben sich nicht an, während die Zellen des Adrenalkörpers eine schwache Reaktion zeigen. Dieser Befund stimmt am ehesten mit den von Narasimham und Kamat (1970) und von Ray und Ghosh (1961) bei der Taube gefundenen Ergebnissen überein. Die Basalmembran der Interrenalzellen stellt sich bei dieser Vogelart breiter und deutlicher dar als die der Adrenalzellen. Beim Huhn konnte Sivaraman (1964) in den Zellen des Adrenalkörpers keine PAS positive Reaktion nachweisen, während beim Spatzen dagegen von Narasimham und Kamat (1970) eine deutliche Verfärbung des Cytoplasmas der Adrenalzellen festgestellt wurde. Ghosh (1980) berichtet von einer sehr starken PAS Reaktion der Adrenalzellen bei der Schnepfe *Gallinago gallinago*.

In der Alcianblau Färbung pH 2,5 zeigten bei der japanischen Wachtel nur die Zellen des Adrenalkörpers eine schwache Anfärbung. Dies steht in Einklang mit dem von Dutta und Ghosh (1964) in vergleichenden Untersuchungen erhobenen Befund, daß metachromatische Substanzen als übereinstimmender Bestandteil der Adrenalzellen bei den untersuchten Vogelarten anzutreffen sind. Dennoch zeigen sich tierartliche Unterschiede.

Während Ghosh (1980) lediglich von einer schwachen Anfärbbarkeit des Cytoplasmas der Adrenalzellen bei der Schnepfe berichtet, stellen Narasimham und Kamat (1970) zusätzlich eine starke Anfärbbarkeit der Basalmembran bei der Taube fest. Beim Spatz (*Passer domesticus*) weisen die Autoren eine im Vergleich zur Taube stärkere Anfärbung des Cytoplasmas nach, die jedoch nicht mit einer Darstellung der Basalmembran einhergeht.

Die Interpretation der mit der PAS Färbung nach Mc Manus und der Alcian Blau Färbung erhaltenen Befunde gestaltet sich schwierig, da diese nur relativ unspezifische Färbungen darstellen. Da durch die vielfältigen Bearbeitungsschritte wie Fixation in Bouin` Lösung, aufsteigende und absteigende Alkoholreihe vor bzw. nach der Einbettung leichtlösliche Kohlenhydrate und fettlösliche Substanzen aus dem Gewebe gelöst wurden, bleiben in erster Linie Mukoproteide, Glykoproteine und in geringem Maß Glykolipide, die als biochemisches Korrelat zu histochemisch erhobenen Befunden angesehen werden können. Für den Nachweis der Glykoproteine und der Glykolipide stellen die Lektine aufgrund ihrer Kohlenhydratspezifität ein sehr empfindliches Verfahren dar.

Von den 13 mit FITC konjugierten Lektinen zeigen das Mannose spezifische CON A (Goldstein und Poretz, 1986) und das N-Azetylglucosamin spezifische WGA (Allen et al., 1973) in einer Konzentration von 0,02 mg/ml ein charakteristisches Bindungsverhalten. Bei den mit HRP konjugierten Lektinen ist dies für WGA und für das Galactose spezifische RCA1 (Nicolson et al., 1974) der Fall. Da die Lektine durchaus mit verschiedenen Kohlenhydratgruppen Bindungen eingehen können, die sich jedoch aufgrund ihrer Affinität unterscheiden, kann nur bei niedriger Konzentration des Lektins mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, daß seine Bindung an die je-

nige Kohlenhydratstruktur erfolgt ist, die als für das Lektin spezifisch angesehen wird. Erfolgt die Bindung bei einer höheren Konzentration des Lektins, so ist es durchaus möglich, daß diese an das Kohlenhydrat der angegebenen Spezifität erfolgt, dieses jedoch in sehr geringer Konzentration vorliegt, oder das Lektin ging mit einem Kohlenhydrat, für das es eine geringere Affinität besitzt, eine Bindung ein.

Die Lektine CON A, WGA und RCA1 werden unter anderem als Marker für Glykoproteine eingesetzt, da die Mannose reichen Oligosaccharide der Glykoproteine in erster Linie aus den Zuckern Mannose und N-Azetylglucosamin gebildet werden und die komplexen Oligosaccharide sich aus den Zuckern Mannose, N-Azetylglucosamin und Galactose, die durch Sialinsäure und evtl. Fucose ergänzt werden, zusammensetzen. Dabei können sogar einzelne Reifungsschritte der Oligosaccharidseitenketten in den Zellorganellen ER und Golgi Apparat aufgrund der unterschiedlichen Bindung für CON A und WGA unterschieden werden (Tartakoff und Vassalli, 1983). So färbt bei Ig M produzierenden Myeloma Zellen HRP markiertes CON A den cisternalen Raum der Kerndoppelmembran, des rauen ER und die Cisternen der Cis Seite des Golgi Apparates an. Die Cisternen der Trans Seite des Golgi Apparates, die mit dem Golgi Apparat verbundenen Vesikel und die Zelloberfläche werden dagegen durch WGA dargestellt.

Bindungsstellen für das Galactose spezifische RCA 2 wurden in Virus produzierenden Zellen im Übergang der beiden Golgi Subcompartimente nachgewiesen (Griffiths et al., 1982).

Bei einem Vergleich des Bindungsverhaltens der Lektine CON A, WGA und RCA 1, die in den beiden Konjugationen FITC und HRP besonders bei CON A und WGA, und mit individuellen Unterschieden bei RCA1 in der Konjugation mit HRP ein übereinstimmendes Bindungsverhalten zeigten, ergibt sich für die Zellen des Interrenalkörpers ein bei allen drei Lektinen angelegtes Grundmu-

ster, das die Zellen des Interrenalkörpers als Glykoprotein produzierende Zellen kennzeichnet. Den Lektinen gemeinsam ist die in der subcapsulären Zone fleckige, in der Golgi Region gelegene Fluoreszenz bzw. der an diesem Ort auftretende Niederschlag. Diese wird in der inneren Zone bei WGA deutlich breiter, bei Con A geht sie kometenschweifartig in das Cytoplasma über. Bei RCA 1 nimmt die Intensität im Organinneren ab.

Zusätzlich kommt es durch WGA und RCA1, aber nicht eindeutig durch CON A, zu einer deutlichen und breiten Darstellung der die Zellstränge des Interrenalkörpers umfassenden Basalmembranen. Diese werden auch in der PAS Färbung deutlich dargestellt. Da sich die Dicke der Basalmembranen bei den Zellsträngen des Interrenalkörpers elektronenmikroskopisch nicht von denen des Adrenalkörpers unterscheidet und letztere sogar stärker von bindegewebigen Elementen begleitet werden, ist anzunehmen, daß die Bindung über die Basalmembran hinaus an Glykoproteine oder Glykolipide erfolgt, die der Glykocalyx der Zellen des Interrenalkörpers zuzuordnen sind. Im Zusammenhang mit der deutlichen Darstellung der Golgi Region durch diese Lektine ist auch an eine Sekretion eines Glykoproteins zu denken, das dann als Bestandteil der Glykocalyx zu der deutlichen Darstellbarkeit der Basalmembran beiträgt. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß von Goddard et al. (1978) Proteine im Mediumüberstand nachgewiesen wurden. Die Konzentration verhielt sich zu der des gebildeten Steroidhormons proportional, so daß das Protein als hypothetischer Proteincarrier angesprochen wurde.

Die unsichere Darstellung der Basalmembran der Interrenalzellen durch CON A kann dadurch bedingt sein, daß sich bei diesem Lektin das Cytoplasma dieser Zellen allgemein diffus anfärbt, und die Basalmembran dadurch schlechter abgrenzbar wird.

Bei CON A reicht die von der Golgi Region ausgehende intensive Fluoreszenz sehr weit in das Cytoplasma. Ob diese mit dem in reichlicher Menge vorkommenden ER in Verbindung zu bringen ist (Tartakoff und Vassalli, 1983) muß-

te durch ultrahistochemische Untersuchungen geklärt werden.

Ebenso könnte auf diese Weise die Frage geklärt werden, ob die WGA im Cytoplasma der subcapsulären Zone auftretende, sehr feine punktförmige Fluoreszenz eventuell auf der Bindung an Lysosomen oder "dense bodies" beruht.

Die Zellen des Adrenalkörpers zeigen bei WGA eine sehr deutliche diffuse Fluoreszenz. Bei CON A tritt eine in ihrer Intensität sehr unterschiedliche Fluoreszenz auf, die zwischen vereinzelt fein granulär bis diffus intensiv schwanken kann. Bei einigen Adrenalzellen tritt bei CON A und bei WGA eine zusätzliche Intensivierung in der Golgi Region auf. Bei RCA1 zeigen die Adrenalzellen vereinzelt eine Anfärbung des Cytoplasmas.

Als Bindungsstellen kommen für diese Lektine in den Zellen des Adrenalkörpers in erster Linie Glykoproteine und Glykolipide in Frage. Neben dem für die allgemeinen Stoffwechselvorgänge selbstverständlichen und in jeder Zelle enthaltenen Enzymgrundmuster kommen in den Nebennierenmarkzellen die für die Synthese von Adrenalin und Noradrenalin benötigten Enzyme vor. Es handelt sich dabei um die Tyrosinhydroxylase, die Dopamin- β -Hydroxylase und die Phenylethanolamin-N-Methyl-Transferase (Levin, 1986).

Bei der Dopamin- β -Hydroxylase handelt es sich um ein Glykoprotein, das N-Azetylglucosamin, Mannose und Fucose enthält (Wallace, 1973). Dieses Enzym kommt in der Membran und im löslichen Inhalt der Vesikel vor (Levin, 1986). Einige biochemische Arbeiten beschäftigen sich mit den Glykoproteinen der Vesikel. Huber et al. (1979) berichten, daß es in der Vesikelmembran boviner Adrenalzellen fünf Glykoproteine gibt, von denen eines als Dopamin- β -Hydroxylase identifiziert wurde. Aus dem löslichen Inhalt isolierten sie drei Glykoproteine, darunter die Dopamin- β -Hydroxylase. In affini-

tätschromatographischen Untersuchungen wurde von den drei löslichen Glykoproteinen nur Dopamin- β -Hydroxylase an CON A adsorbiert. Keines der drei löslichen Glykoproteine reagierte mit WGA oder RCA. Von den Glykoproteinen der Vesikelmembran banden drei, darunter Dopamin- β -Hydroxylase, an CON A, während nur zwei an WGA adsorbierten. Von intakten Vesikeln wurde CON A nicht gebunden.

Abbs und Philipps (1980), isolierten 13 Glykoproteine aus der Vesikelmembran. Sie berichten, daß der Kohlenhydratanteil der Glykoproteine zum Inneren der Granula gerichtet ist, während Meyer und Burger (1976) zu dem Ergebnis gelangten, daß WGA spezifische Kohlenhydratstrukturen an der Außenseite der Vesikelmembran gelegen sind. In der Arbeit von Meyer und Burger (1976) wurde durch WGA eine Agglutination der intakten Vesikel hervorgerufen. Andere Lektine zeigten keine Wirkung. Die Autoren führen die agglutinierende Wirkung des WGA auf die Glykoproteine, nicht die Glykolipide der Vesikelmembran zurück.

In einer weiteren Arbeit von Cahill und Morris (1979) wurden elektrophoretisch aufgetrennte Glykoproteine der Vesikelmembran und des löslichen Vesikelinneren auf ihre Bindung an die Lektine CON A, WGA, RCA1 und RCA 2 hin untersucht. Dabei wurde CON A von 10 Glykoproteinen, WGA von 5, RCA1 von 8, und RCA2 von 7 Glykoproteinen der Vesikelmembran gebunden. Dabei war Dopamin- β -Hydroxylase das am stärksten mit allen vier Lektinen reagierende Glykoprotein. Aus dem löslichen Material des Kerninneren war es das einzige, signifikant Lektin bindende Glykoprotein.

Diese Arbeiten weisen der Dopamin- β -Hydroxylase unter den Glykoproteinen der Vesikel des Adrenalkörpers eine Schlüsselrolle zu, da sie sowohl in der Vesikelmembran als auch im Vesikelinneren gelegen ist und am deutlichsten mit den Lektinen reagiert.

Beim Menschen können die Adrenalin und Noradrenalin Granula aufgrund ihres Glykoproteingehaltes unterschieden werden. Adrenalin Granula sind reich an Glykoproteinen, während Noradrenalin Granula weitgehend negativ reagieren. Parallel dazu kann im Golgi Apparat der Adrenalin produzierenden Zellen im Gegensatz zu dem der Noradrenalin produzierenden Zellen reichlich Glykoprotein nachgewiesen werden. (Benchimol und Cantin, 1977)

Da die Zellen des Adrenalkörpers von Sympathicoblasten abstammen, dürfen die in den Membranen integrierten Ganglioside nicht übersehen werden (Dreyfus et al. 1977). Die Lipid- und die Proteinzusammensetzung der Membran chromaffiner Zellen wurde mit den Membranen des ER (Hortnagel, 1976) und des Golgi Apparates (Trifaro et al., 1976) verglichen. Dabei treten erhebliche Unterschiede auf. Ebenso gibt es erhebliche Differenzen in der Lipidzusammensetzung der Nebennierenmarkzellen verschiedener Tierarten (Price und YU, 1976). Bei Mensch, Pferd, Rind, Schwein und Schaf schwankt die Verteilung der Gangliosid gebundenen Sialinsäuren (N-Azetylneuraminsäure und N-Glycolneuraminsäure) erheblich. Der Anteil der N-Glycolneuraminsäure beträgt bei Rind und Schwein 60% der Gesamtsialinsäuren, während beim Menschen nur N-Azetylneuraminsäure auftritt (Price und Yu, 1976).

Für die sehr starke Reaktion, die die Adrenalzellen bei der Beschichtung mit WGA zeigen, spielen wahrscheinlich die Bindung an intakte Vesikel (Meyer und Burger, 1976) und die relativ hohe Affinität des WGA für N-Azetylneuraminsäure, die ein Viertel der Affinität für N-Azetylglucosamin beträgt (Monsigny et al., 1980), eine wichtige Rolle.

Das in seiner Intensität uneinheitliche Bindungsvermögen von CON A und RCA 1 könnte durch die Tatsache, daß die meist auf der Innenseite der Vesikel gelegenen Kohlenhydratstrukturen nur bei Anschnitten der Vesikel für die Lektine zugänglich sind, erklärbar sein.

Schwankungen im Bindungsverhalten könnten auch auf unterschiedliche, physiologische Stoffwechselzustände innerhalb der Zellen zurückzuführen sein. Insbesondere bei FITC konjugiertem CON A tritt bei den intensiv fluoreszierenden Zellen des Adrenalkörpers eine zusätzliche Intensivierung im Golgi Bereich auf. Dies ist ein Hinweis darauf, daß bei einigen Zellen des Adrenalkörpers eine starke Glykoproteinproduktion gegeben ist, die beim Menschen mit der Synthese der biogenen Amine, insbesondere des Adrenalins, in Zusammenhang zu bringen ist (Benchimol und Cantin, 1977).

Abgesehen von diesen Überlegungen kommt sicher eine Fülle weiterer, bisher nicht untersuchter Substanzen als biochemisches Korrelat zu den morphologischen Befunden in Frage.

Von den ebenfalls wie WGA für N-Azetylglucosamin spezifischen Lektinen UEA2 und GS2 wurde lediglich durch das Lektin UEA2 in der Konzentration von 0,1 mg/ml die Basalmembranen des Interrenalkörpers der Tiere aus der jüngeren Gruppe dargestellt. Die Adrenal- und die Interrenalzellen reagieren mit diesem Lektin nicht. Für GS2 konnten in der Nebenniere der japanischen Wachtel keine Bindungsstellen nachgewiesen werden.

Die Spezifität für GS2 gilt im Gegensatz zu WGA und UEA2 nur für endständige, nicht reduzierte N-Azetylglucosamingruppen (Wood et al., 1978) UEA2 ist ebenso wie WGA spezifisch für N-Azetylglucosamin, sowie dessen Dimer oder Trimer. Allerdings ist die Affinität des UEA2 für diese Substanzen etwa um den Faktor 200 geringer als bei WGA (Goldstein und Poretz, 1986).

Von den N-Azetyl-D-Galactosamin spezifischen Lektinen DBA, SBA, HPA und MPA zeigten DBA und SBA ein nahezu identisches Bindungsverhalten.

N-Azetyl-D-Galactosamin ist als Bestandteil der Proteoglykane innerhalb der ungeformten Grundsubstanz zu erwarten.

Bei beiden Lektinen kam es zu einer schwachen Fluoreszenz der Zellen des Adrenalkörpers der Tiere der älteren Gruppe, während es bei den jüngeren Tieren zu einer Darstellung der Basalmembranen kam. Da das Endothel der Kapillaren in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Basalmembranen des Adrenal- und des Interrenalkörpers liegt, konnte lichtmikroskopisch eine Bindung an eine dieser beiden Strukturen nicht unterschieden werden. Die leichte Fluoreszenz der Zellen des Adrenalkörpers steht mit der schwachen Anfärbung dieser Zellen mit Alcianblau pH 2,5 in Übereinstimmung.

Durch HPA wurden lediglich die Basalmembranen der Nebennieren von den Tieren der älteren Gruppe dargestellt, während für MPA in der Konzentration von 0,1mg/ml keine Bindungsstellen nachweisbar waren.

Damit zeigen die Nebennieren der japanischen Wachtel für die allgemein als Gefäßmarker dienenden N-Azetyl-D-Galactosamin spezifischen Lektine ein uneinheitliches Bindungsverhalten, in dem auch Altersunterschiede zum Ausdruck kommen. Dies ist Ausdruck eines altersabhängigen, unterschiedlichen Gewebeaufbaus. Eine zeitlich und regional variierende DBA Affinität wurde auch von Plendl und Schmahl (1986) bei den embryonalen Blutgefäßendothelien der NMRI Maus beobachtet.

Die für Galaktose spezifischen Lektine PNA, RCA1 und RCA2 zeigen ein weitgehend übereinstimmendes Bindungsverhalten. Ihnen ist die Darstellung des Golgi Bereiches der Interrenalzellen und das diffuse schwach positive Verhalten einzelner Zellen des Adrenalkörpers gemeinsam. Das Verhalten dieser

Lektine bezüglich der Basalmembranen der Interrenalzellen unterscheidet sich dahingehend, daß durch PNA im Gegensatz zu RCA1 und RCA2 nur bei Tieren der jüngeren Gruppe eine Darstellung erfolgt.

Dies mag dadurch bedingt sein, daß PNA in erster Linie an das Disaccharid Gal β 1,3GalNAc bindet (Uhlenbruck et al., 1969). Die Affinität für Galaktose ist bei PNA etwa um den Faktor 10 geringer als bei RCA 2 (Goldstein und Porretz, 1986).

Für das für Galaktose und N-Azetylgalactosamin gleichermaßen spezifische Lektin GS1 fanden sich in der Nebenniere der japanischen Wachtel im Gegensatz zu den übrigen Galaktose spezifischen Lektinen in der Konzentration von 0,1mg/ml keine Bindungsstellen. Dieses Lektin reagiert im Gegensatz zu PNA, RCA1 und RCA2, die auch an interne Galaktose binden, nur an endständige Galaktosegruppen (Murphy und Goldstein, 1979).

UEA1 ist ein Fucose spezifisches Lektin. Es stellt die Basalmembranen der Tiere aus der jüngeren Gruppe dar. Da Fucose einem Teil der komplexen Oligosaccharide im Golgi Apparat angeheftet wird, kommen Fucose enthaltende Glykoproteine der extrazellulären Matrix als Gegenstand der Bindung in Frage.

Die elektronenmikroskopische Darstellung der Zellen des Interrenalkörpers der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) weist in Aussehen und Gestalt des Zellkernes, des Golgi Apparates, des rauen und des glatten ER, der Lipidtropfen, der "dense bodies" und des Hyaloplasmas keine auffallenden Abweichungen zu den bisher vorliegenden Darstellungen bei Vögeln auf (Pearce et al., 1977, 1978; Bhattacharyya, 1975; Cronshaw et al., 1974; Unsicker, 1973 d; Haack et al., 1972; Kjaerheim, 1968a, 1968b; Kondics und Kjaerheim, 1966; Fujita, 1961).

Sie zeigen das den Steroidhormon produzierenden Zellen gemeinsame Bild eines großen stoffwechselaktiven Kernes, Mitochondrien vom Crista- oder Tubulustyp, reichlich ER, zahlreiche Lipidtropfen, "dense bodies" und einen deutlichen Golgi Apparat.

Bhattacharyya (1975), der die Interrenalzellen der Wachtel und der Taube elektronenmikroskopisch untersucht hatte, wies auf die auch in den eigenen Untersuchungen beobachteten, weiten Interzellularspalten zwischen benachbarten Zellen hin. Ebenso erwähnt er Microvilli und Interdigitationen, die von Cytoplasmaausläufern der Interrenalzellen gebildet werden. Zwischen den Zellmembranen benachbarter Zellen sind Zonulae adhaerentes und Zonulae occludentes ausgebildet. Die von mir zusätzlich beobachteten, Desmosomen ähnlichen Strukturen wurden von Bhattacharyya (1975) nicht geschildert, während Unsicker (1973 d) zwei verschiedene Typen von Desmosomen gefunden hatte. Ishimura und Fujita (1981) weisen mit Hilfe der Gefrierbruch Technik Desmosomen, gap junctions und maculae occludentes als Zell Kontakte beim Huhn nach.

Das gleichzeitige Auftreten von Mitochondrien vom Crista- und vom Tubulustyp stimmt mit den Ergebnissen von Bhattacharyya (1975), der einen Polymorphismus der Mitochondrien im inneren und im subcapsulären Bereich beobachtet hatte, überein. Da bei der Ente von Pearce et al. (1978) eine eindeutig elektronenmikroskopisch verifizierbare Ausbildung einer inneren und äußeren Zone erst nach Gaben von ACTH ermöglicht wurde, könnte das Auftreten von Mitochondrien vom Tubulustyp bereits als morphologischer Hinweis für eine funktionelle Zonierung der Zellen des Interrenalkörpers angesehen werden.

Dennoch können diese Ergebnisse von der Ente (*Anas platyrhynchos*) nicht vorbehaltlos übernommen werden, da die Nebenniere der japanischen Wach-

tel auch unter experimentellen Bedingungen keine Zonierung aufweist. So hatte eine übermäßige Zufuhr von Salz (Bhattacharyya et al., 1975) oder Stress bzw. Dexamethasonbehandlung (Bhattacharyya und Ghosh, 1972) jeweils eine einheitliche Atrophie (Dexamethasonbehandlung) oder Hypertrophie (Stress, übermäßige Salzversorgung) zur Folge.

Die die Zellstränge der Interrenalzellen umgebenden Basalmembranen grenzen diese gegen die Kapillaren und die Zellhaufen des Adrenalkörpers ab. Sie werden in ihrem Verlauf von weniger bindegewebigen Elementen begleitet als die Basalmembranen des Adrenalkörpers. Dieser elektronenmikroskopische Befund stützt die Hypothese, daß es sich bei der mit WGA, RCA1 und zum Teil mit CON A dargestellten Struktur am basalen Pol der Zelle nicht um die Basalmembran allein, sondern um ein zur Glykocalyx gehörendes sekretorisches Protein handelt.

Die Zellen des Adrenalkörpers der japanischen Wachtel zeigen bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen mit dem geringen Anteil an glattem ER, relativ wenig Mitochondrien, einem deutlichen Golgi Apparat, im Hyaloplasma liegenden Microtubuli und Microfilamenten und einem Überwiegen der Granula, die fast das gesamte Cytoplasma ausfüllen, ein für Nebennierenmarkzellen typisches Bild. Die Adrenalzellen der japanischen Wachtel weichen somit nicht von der bei den übrigen Vogelarten gefundenen Grundstruktur ab (Chungsamarnyart et al. 1981; Guzsal und Hassan, 1975; Cronshaw et al., 1974; Unsicker, 1973d; Cuello, 1970; Fujita und Machino, 1963; Kano, 1959).

Die Darstellung der Adrenalin bzw. Noradrenalin produzierenden Zellen aufgrund der Struktur ihrer Granula steht bei diesen Arbeiten im Vordergrund.

Diese Unterscheidung ist auch bei den Adrenalzellen der japanischen Wachtel möglich. Darüber hinaus existieren Zellen, die aufgrund der Struktur ihrer Granula keiner der beiden Gruppen eindeutig zugerechnet werden können.

Es überwiegen die Adrenalin produzierenden Zellen über die Noradrenalin produzierenden Zellen. Ghosh (1980) gibt in einer Übersicht über 38 Vogelarten den Anteil der Noradrenalin produzierenden Zellen bei der japanischen Wachtel mit 75%, und den Anteil der Adrenalin produzierenden Zellen mit 25% an. Bei dem von ihm untersuchten Vogelarten verhält sich der Anteil der Adrenalin produzierenden Zellen entsprechend dem Grad der phylogenetischen Entwicklung dieser Vogelarten. Unsicker (1973 a) hatte in seiner vergleichenden Arbeit ein Überwiegen der Adrenalin produzierenden Zellen bei allen von ihm untersuchten Vogelarten festgestellt, so daß es ihm nicht möglich war, das Adrenalin : Noradrenalin Verhältnis mit dem phylogenetischen Entwicklungsstand der jeweiligen Vogelarten in Verbindung zu bringen.

Bei den Noradrenalin produzierenden Zellen, in deren Cytoplasma parallel verlaufende Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums auftreten, handelt es sich vermutlich um Übergangsformen zu Sympathicoblasten. Sie wurden von Guzsal und Hassan (1975) bei der Ente und der Gans beschrieben. Für die Synthese von Adrenalin oder Noradrenalin sind hormonelle, biochemische und anatomische Faktoren verantwortlich. Die Synthese der beiden Catecholamine wird durch Glucocorticoide beeinflusst, indem die Umwandlung von Noradrenalin zu Adrenalin durch Glucocorticoid bedingte Induktion der Aktivität der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase ausgelöst wird (Wurtman und Pohoreky, 1971; Wassermann und Bernard, 1971). Die anatomische Voraussetzung dafür bildet bei den Säugern die Ausbildung von Nebennierenmark und Nebennierenrinde, so daß sich in den die Stränge der Nebennierenrinde

passierenden Kapillaren sehr hohe Konzentrationen an Nebennierenrindenhormonen anreichern. Diese können beim Durchfluß durch das Nebennierenmark ihre induzierende Wirkung auf die Adrenalin synthese ausüben (Levin, 1986).

Inwieweit diese anatomisch-physiologischen Zusammenhänge auch in der Nebenniere der Vögel Bedeutung erlangen, kann nicht sicher gesagt werden. Ghosh (1980) erwähnt, daß die Zellhaufen des Adrenalkörpers bei Taube und Kuckuck am Rand Adrenalin und in ihrem Zentrum Noradrenalin produzieren. Dies wäre ein Hinweis auf eine durch unmittelbaren Gefäßkontakt geförderte Adrenalinproduktion.

Daß zwischen den einzelnen Zellformen (Neuronen, Sympathicoblasten, Adrenalzellen) Übergänge möglich sind und die Ausprägung eines bestimmten Zelltyps von seiner Mikroumgebung abhängig ist, zeigen die Versuche zur Transdifferenzierung von Nebennierenmarkzellen. So nehmen beispielsweise chromaffine Nebennierenmarkzellen der Ratte *in vitro* nach Behandlung mit Nerve Growth Factor (NGF) das Aussehen und die Form von Neuronen an (Millar und Unsicker, 1983). Dasselbe kann in Kulturen aus bovinen Nebennierenmarkzellen durch nicht chromaffine Zell- und Organ Extrakte erreicht werden (Unsicker und Hofmann, 1983).

Dies zeigt, daß die Funktion der Adrenalzellen weitgehend von auf sie wirkenden Faktoren abhängig ist und daß das morphologische Bild der Adrenalzellen zwangsläufig von diesen Faktoren beeinflußt wird.

Die Frage, ob es bei den Zellen, die nicht eindeutig als Adrenalin oder Noradrenalin produzierende Zellen eingeordnet werden können, möglich ist, daß beide Hormone in einer Zelle gleichzeitig vorkommen, könnte bei Vorliegen geeigneter Antikörper durch immunhistochemische Untersuchungen eindeutig beantwortet werden.

Die elektronenmikroskopische Darstellung der Kapillaren der japanischen Wachtel, zeigt das für sinusoide Kapillaren typische Bild. Das weite Gefäßlumen wird durch ein stark fenestriertes Endothel, dessen Fenestrationsen durch Diaphragmen verschlossen sind, begrenzt. Die endokrinen Zellen werden lediglich durch die Basalmembran und zum Teil durch bindegewebige Fasern von den Kapillaren getrennt.

Die kreisförmig in das Lumen vorragenden Ausstülpungen des Endothelsaumes, deren begrenzende Membran durch ein Diaphragma verschlossene Fenestrationsen aufweist, ähnelt den von Milici et al. (1986) erstmals beschriebenen "endothelial pockets". Dabei handelt es sich um eine endotheliale Zellstruktur, die sich durch eine Fusion von transendothelialen Kanälen mit plasmalemmalen Vesikeln bilden kann.

Die Aufteilung der arteriellen Blutversorgung bei der japanischen Wachtel in zwei Äste der A. adrenal ventralis und der kleineren A. adrenal dorsalis entspricht den von Hays (1914) beim Huhn geschilderten Verhältnissen.

Die Ergebnisse der licht- und der elektronenmikroskopischen Untersuchung der Nebenniere der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) stimmen weitgehend mit den Befunden bei anderen Vogelarten überein. Die Ultrastruktur der Zellen des Adrenalkörpers, des Interrenalkörpers sowie die Gefäßversorgung der Nebenniere der japanischen Wachtel werden in dieser Arbeit beschrieben.

Bindungsstellen für die FITC markierten Lektine CON A, WGA, UEA2, RCA1, RCA2, PNA, DBA, SBA, HPA und UEA1 sowie die HRP konjugierten Lektine CON A, WGA, RCA1 und PNA wurden in der Nebenniere der japanischen Wachtel in den angegebenen Konzentrationen nachgewiesen.

Zusammenfassung

Die Nebennieren der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) wurden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurde ein Nachweis von Lektinbindungsstellen mit 13 FITC und 6 HRP konjugierten Lektinen durchgeführt. Bei den FITC konjugierten Lektinen handelt es sich um CON A, WGA, UEA2, GS2, RCA1, RCA2, PNA, GS1, DBA, SBA, HPA, MPA und UEA1. In der Konjugation mit HRP kamen die Lektine CON A, WGA, RCA1, PNA, DBA und UEA1 zur Anwendung. Der Nachweis wurde an zwei Altersstufen (8 bzw. 20 Wochen) vergleichend durchgeführt.

Die Nebenniere der japanischen Wachtel zeigt lichtmikroskopisch folgenden Aufbau: Adrenal- und Interrenalzellen liegen wie bei allen Vogelarten nicht in Mark und Rinde gegliedert, sondern ineinander verwoben vor. Die Gewebestränge des Adrenal- und des Interrenalkörpers werden von einem feinen bindegewebigen Netz umgeben, von dem einzelne Fasern zwischen die Zellen des Adrenalkörpers ziehen.

Die Zellstränge des Interrenalkörpers sind in eine der Zona glomerulosa und der Zona reticularis der Säuger äquivalente subcapsuläre und innere Zone gegliedert. In den Zellhaufen des Adrenalkörpers können Adrenalin und Noradrenalin produzierende Zellen unterschieden werden.

Die Lektine CON A, WGA und RCA1 führen zu einer Darstellung des Golgi Apparates und der basalen Region der Interrenalzellen. Die Möglichkeit einer Glykoproteinsekretion wird diskutiert. Darüber hinaus zeigt CON A im Cytoplasma der Interrenalzellen diffuse Bindungsstellen. Bei WGA tritt im Cytoplasma der subcapsulären Zone eine feine, punktförmige Fluoreszenz auf.

Das Cytoplasma der Zellen des Adrenalkörpers zeigt ein homogen starkes Bindungsverhalten für WGA, sowie zwischen negativ und stark positiv schwankende Reaktionen bei CON A. Bei beiden Lektinen tritt die Golgi Region bei den stark positiven Zellen als Bindungsort hervor. Für RCA1 treten im Cytoplasma vereinzelter Adrenalzellen Bindungsstellen auf. Die Galaktose spezifischen Lektine PNA und RCA2 zeigen ein mit RCA1 weitgehend identisches Verhalten.

Von den N-Azetyl-D-galactosamin spezifischen Lektinen zeigen DBA und SBA in der FITC Konjugation eine schwache Fluoreszenz im Cytoplasma der Adrenalzellen der älteren Tiere. Bei den jüngeren Tieren wird die Basalmembran dargestellt. Bei den Tieren der älteren Gruppe reagiert diese mit HPA. Das Fucose spezifische UEA1 bindet an die Basalmembran der jüngeren Tiere. Eine Differenzierung zwischen den die Zellstränge umgebenden Basalmembranen und den Kapillaren ist lichtmikroskopisch nicht möglich.

In den elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen die Zellen des Adrenal- und des Interrenalkörpers das für diese Zellen auch bei anderen Vogelarten typische Bild. Aufgrund der Granulastruktur können in den Zellen des Adrenalkörpers Adrenalin und Noradrenalin produzierende Zellen unterschieden werden. Die weiten, sinusoiden Kapillaren sind reichlich fenestriert und zeigen den "endothelial pockets" ähnliche Strukturen.

Die Blutgefäßversorgung wird mit rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen dokumentiert. Die Nebenniere wird auf ihrer Ventralseite von zwei Ästen der A. adrenalalis ventralis und auf ihrer Dorsalseite von der kleineren A. adrenalalis dorsalis versorgt. Diese Gefäße teilen sich an der Organoberfläche und entlassen die Kapillaren, die fast rechtwinklig in die Tiefe des Organes ziehen.

Summary

Lightmicroscopic, electronmicroscopic investigations and proof of lectin-binding sites in the adrenal of the japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*).

The adrenal glands of the japanese quail were investigated by light- and electronmicroscopic methods. The adrenal glands were incubated by 13 FITC and 6 HRP conjugated lectins. The FITC marked lectins were CON A, WGA, UEA2, GS2, RCA1, RCA2, PNA, GS1, DBA, SBA, HPA, MPA and UEA1. The HRP marked lectins were CON A, WGA, RCA1, PNA, DBA and UEA1. Animals of two age groups (8 and 20 weeks) were used for a comparison.

The adrenal glands of the japanese quail show the characteristic feature common to all birds. Medullary and interrenal cells are not separated in different layers, but are intermingled throughout the gland. The solid cords of interrenal and chromaffin tissue are surrounded by fine fibers of connective tissue.

The interrenal tissue of the japanese quail is subdivided into two zones similar to the zona glomerulosa and the zona reticularis of the mammals. Within the chromaffin tissue there are two types of medullary cells, adrenaline and noradrenaline containing cells.

The lectin-binding sites for CON A, WGA and RCA1 are situated in the golgi region and near to the basal lamina of the interrenal cells. Secretion of glycoproteins by these cells appears possible. Furthermore a diffuse binding for CON A is seen throughout the cytoplasm of interrenal cells. WGA however shows a spot-like binding pattern in the cytoplasm of the interrenal cells of the subcapsular region.

A differential binding pattern exists for the cytoplasm of chromaffin cells. The homogenous reaction of WGA is very intense. The binding of CON A varies from negative to intense. In some of the CON A or WGA positive cells the region of the golgi apparatus is pointed out. A few chromaffin cells binding RCA1 are scattered throughout the gland.

The staining pattern of the galactose specific lectins PNA and RCA2 is almost identical to RCA1.

The FITC conjugated lectins DBA and SBA show a weak fluorescence in the cytoplasm of the chromaffin cells of the animals of the older group, whereas in younger quails the basal lamina is fluorescent. HPA is a selective marker of the basal lamina surrounding the interrenal cells of the older quails. Binding sites for the fucose specific UEA1 exist in the basal lamina of the younger animals. The basal lamina of the cell cords and the capillaries can not be discerned exactly by light microscopy.

The ultrastructure of the chromaffin and the interrenal cells shows the common feature which has been seen for other birds before. Adrenaline and noradrenaline producing cells can be distinguished by the form of their granules. The wide sinusoid capillaries are fenestrated and show endothelial pockets like structures.

The adrenal gland of the Japanese quail is supplied by two branches of the A. adrenalis ventralis and the smaller A. adrenalis dorsalis. These vessels are subdividing near the surface of the parenchyma. The capillaries derive from these vessels in a rectangular manner and run to the inner parts of the gland. The blood supply is demonstrated by SEM micrographs.

Literaturverzeichnis

- ABBES, M. and J. PHILIPPS, 1980: Organisation of the proteins of the chromaffin granule membrane.
 Biochim. Biophys. Acta 595, 200-221
- ALDRICH, T.B., 1901: A preliminary report on the active principle of the suprarenal gland.
 Am. J. Physiol. 5, 457-461
- ALLEN, A.K., A. NEUBERGER and N. SHARON, 1973: The purification, composition and specificity of wheat-germ agglutinin.
 Biochem. J. 131, 155-162
- AMSELGRUBER, W. und H.E. KÖNIG, 1987: Vereinfachte Herstellung von Gefäßkorrosionspräparaten zur rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung.
 Zeitschr. Mikr. Anat. Forsch. (in Druck)
- ASHWELL, G. and A.G. MORELL, 1974: The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition of circulating glycoproteins.
 Adv. Enzymol. 41, 99-128
- BENCHIMOL, S. and M. CANTIN, 1977: Ultrastructural cytochemistry of the human adrenal medulla.
 Histochem. 54, 9-26
- BENNETT, H.S., 1941: Cytological manifestations of secretion in the adrenal medulla of the cat.
 Am. J. Anat. 69, 333-382

- BIRD, G.W.G., 1951: Specific agglutinating activity for human red blood corpuscles in extracts of *Dolichos biflorus*.
Current Science 20, 298
- BHATTACHARYYA, T.K. and A. GHOSH, 1972: Cellular modification of interrenal tissue induced by corticoid therapy and stress in three avian species.
Am. J. Anat. 133, 483-494
- BHATTACHARYYA, T.K., D. SINHA and A. GHOSH, 1972: A comparative histological survey of the avian adrenocortical homologue.
Arch. Hist. Jap. 5, 419-432
- BHATTACHARYYA, T.K., 1975: Fine structure of the interrenal cell in the quail and the pigeon.
Anat. Embryol. 146, 301-311
- BHATTACHARYYA, T.K., A. CALAS and I. ASSENMACHER, 1975: Effects of corticosteroid treatment and salt loading on the cytophysiology of the interrenal tissue in the pigeon and the quail.
Gen. Comp. Endocrinol. 26, 115-125
- BÖCK, P., 1984: Der Semidünnschnitt.
J.F. Bergmann Verlag, München
- BOHLOOL, B.B. and E.L. SCHMIDT, 1974: Lectins: a possible basis for specificity in the rhizobium legume root nodule symbiosis.
Science 185, 269-271

- BOYD, W.C. and E. SHAPLEIGH, 1954: Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins).
Science 119, 419
- CAHILL, A.L. and S. J. MORRIS, 1979: Soluble and membrane lectinbinding glycoproteins of the chromaffin granule.
J. Neurochem. 32, 855-867
- CHUNGSAMARNYART, N., T. FUJIOKA and J. KITOH, 1981: Correlative light-, fluorescence-, and electronmicroscopic studies of catecholamine storing cells in the adrenal medulla of the domestic fowl.
Cell Tissue Res. 217, 471-477
- CRONSHAW, J., W.N. HOLMES and S.L. LOEB, 1974: Fine structure of the adrenal gland in the duck (*Anas platyrhynchos*).
Anat. Rec. 180, 385-406
- CRONSHAW, J., W.N. HOLMES and R. D. WEST, 1984: The effects of colchicine, vinblastine and cytochalasins on the corticotropic responsiveness and ultrastructure of innerzone adrenocortical tissue in the Pekin duck.
Cell Tissue Res. 236 (2), 333-338
- CUELLO, A.C., 1970: Occurrence of adrenaline and noradrenaline cells in the adrenal gland of the Gentoo penguin (*Pygoscelis papua*).
Experientia 26, 416-418

DREYFUS, H., D. AUNIS, S. HARTH and P. MANDEL, 1977: Gangliosides and phospholipids of the membranes from bovine adrenal medullary chromaffin granules.

Biochim. Biophys. Acta 489, 89-97

DUTTA, B. and A. GHOSH, 1964: A chemocytological investigation of the avian adrenal medulla.

Cytologia 29, 226-232

EULER, U.S.v. and U. HAMBERG, 1949: Colorimetric determination of noradrenaline and adrenaline.

Acta Physiol. Scand. 19, 74-84

FEDER, F., 1971: Zur Topographie und mikroskopischen Anatomie der endokrinen Organe beim Wellensittich.

Anat. Anz. 128, 338-353

FITZGERALD, T., 1969: The Coturnix Quail. Anatomy and Histology.

Iowa State University Press

FREEDMAN, S.L., 1968: The innervation of the suprarenal gland of the fowl (*Gallus domesticus*).

Acta Anat. 69, 18-25

FUJITA, H., 1961: An electron microscopic study of the adrenal cortical tissue of the domestic fowl.

Z. Zellforsch. 55, 80-88

- FUJITA, H. and M. MACHINO, 1963: Electron microscopic studies on the secretory granules of the adrenal medulla of domestic fowl.
Arch. Histol. Jpn. 63, 66-77
- GHOSH, A., 1962: A comparative study of the histochemistry of the avian adrenals.
Gen. Comp. Endocrinol. Suppl. 1, 75-80
- GHOSH, A., 1977: Cytophysiology of the avian adrenal medulla.
Int. Rev. Cytol. 49, 253-284
- GHOSH, A., 1980: Avian adrenal medulla: Structure and function.
In: Eppler, A. and M.H. Stetson (Eds.), Avian Endocrinology;
301-318, Academic Press, New York, USA
- GHOSH, I. and A. GHOSH, 1963: The effect of reserpine on adrenal medulla of the pigeon - a cytochemical investigation.
Cytologia 28, 146-153
- GODDARD, R., G.P. VINSON and B.J. WHITEHOUSE, 1978: Steroid and protein synthesis and secretion by rat adrenocortical tissue in vitro.
J. Endocrinol. 77, 10-11
- GOLDSTEIN, I.J. and R.D. PORETZ, 1986: Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins.
In: Liener, E.J., N. Sharon and I.J. Goldstein (Eds.), The lectins, properties, functions and applications in biology and medicine;
35-247, Academic Press, New York et al.

- GOODCHILD, WM., 1969: The venous system of the adrenal glands of *Gallus domesticus*.
Br. Poult. Sci. 10, 183-185
- GRIFFITHS, G., R. BRANDS, B. BURKE, D. LOUVARD and G. WARREN, 1982: Viral membrane proteins acquire galactose in trans golgi cisternae during intracellular transport.
J. Cell Biology 95, 781-792
- GROSS, W.B., P.B. SIEGEL and R.J. DUBOSSE, 1980: Some effects of feeding corticosterone to chicken.
Poult. Sci. 59, 516-520
- GUZSAL, E. and A. HASSAN, 1975: Ultrastructure of adrenal medullary cells in the goose and duck.
Acta Vet. Hung. 25, 321-333
- HAACK, D.W., H.J. ABEL and R.W. RHEES, 1972: Zonation in the adrenal of the duck: effects of osmotic stress.
Cytobiologie 5 (2), 247-264
- HARRISON, G.A., 1966: Some observations on the presence of annulatae lamellae in alligator and sea gull adrenal cells.
J. Ultrastruc. Res. 14, 158-166
- HARRISON, R. und G.G. LUNT, 1977: Biologische Membranen.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

HARTMAN, F.A. and K.A. BROWNELL, 1949: The adrenal gland.

Henry Kimpton, London

HARVEY S., C.G. SCANES and K.J. BROWN, 1986: Adrenals. In: STURKIE B.D.

(Ed.), Avian physiology; 479-493, Springer Verlag, New York

HAYES, C.E. and I.J. GOLDSTEIN, 1975: Equilibrium dialysis and cell binding studies on *Bandeiraea simplicifolia* lectin.

J. Biol. Chem. 250, 6837-6840

HAYS, V.J., 1914: The development of the adrenal glands of birds.

Anat. Rec. 8, 451-474

HENLE, J., 1865: Über das Gewebe der Nebenniere und der Hypophyse.

Zeitschr. f. rat. Med., 143-152

HODGES, R.D., 1979: Endocrine glands.

In: King, A.S. and J. McLelland (Eds.), Form and function in birds; Vol. 2, 149-234, Academic Press, New York

HOLMES, W.N. and J. CRONSHAW, 1980: Adrenal cortex: Structure and function.

In: Eppler, A. and M.H. Stetson (Eds.), Avian endocrinology; 271-299, Academic Press, New York

HOLMES, W.N. and J.G. PHILIPPS, 1976: The adrenal cortex of birds.

In: Chester Jones, J. and J.W. Henderson (Eds.), General, comparative and clinical endocrinology of the adrenal cortex, 293-420, Academic Press, New York

- HORTNAGEL, H., 1976: Membranes of the adrenal medulla: A comparison of membranes of chromaffin granules with those of the endoplasmic reticulum.
Neuroscience 1, 9-18
- HSIEH, T.M., 1951: The sympathetic and parasympathetic nervous system of the domestic fowl.
Ph. D. Thesis, Edinburgh University
- HUBER, E., P. KONIG, G. SCHULER, W. ABERER, H. PLATTNER and H. WINKLER, 1979: Characterization and topography of the glycoproteins of adrenal chromaffin granules.
J. Neurochem. 32, 35-47
- ISHIMURA, K. and H. FUJITA, 1981: Fine structural development of the interrenal tissue of the domestic fowl with special regard to intercellular junctions.
Anatomy and Embryology 162, 153-162
- KALLIECHARAN, R. and B.K. HALL, 1974: A developmental study of the levels of progesterone, corticosterone, control and cortisone circulating in plasma of chick embryos.
Gen. Comp. Endocrinol. 24, 364-369
- KANO, M., 1959: Electron microscopic study on the adrenal medulla of domestic fowl.
Arch. Histol. Japon. 18, 25-56

- KJAERHEIM, A., 1968: Studies of adrenocortical ultrastructure. 1. Aldehyde perfusion fixation of the domestic fowl.
Acta. Anat. 74, 424-453
- KJAERHEIM, A., 1968a: Studies of adrenocortical ultrastructure. 2. The interrenal cells of the domestic fowl as seen after glutaraldehyde perfusion fixation.
Z. Zellforsch. 91, 429-455
- KJAERHEIM, A., 1968b: Studies of adrenocortical ultrastructure. 3. Effects of dexamethasone and medroxyprogesterone on interrenal cells of the domestic fowl.
Z. Zellforsch. 91, 456-474
- KJAERHEIM, A., 1968c: Studies of adrenocortical ultrastructure. 4. Effects of ACTH on interrenal cells of the domestic fowl.
J. Micro. 7, 715-738
- KLINGBEIL, C.K., W.N. HOLMES, R.B. PEARCE and J. CRONSHAW, 1979: Functional significance of interrenal cell zonation in the adrenal gland of the duck (*Anas platyrhynchos*).
Cell Tissue Res. 201, 23-36
- KNOUFF, R.A. and F.A. HARTMAN, 1951: A microscopic study of the adrenal of the brown pelican.
Anat. Rec. 109, 161-178
- KONDICS, L. and A. KJAERHEIM, 1966: The zonation of interrenal cells in fowls (an electronic microscopical study).
Z. Zellforsch. 70, 81-90

LAHIRI, P. and A. GHOSH, 1975: Effects of some autonomic drugs on heat defense in the pigeon.

Acta Biol. Med. Germ. 34, 149-153

LANDSTEINER, K. und H. RAUBITSCHKE, 1908: Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination.

Zentralbl. Bakteriol. 45, 660-666

LEROY, P., 1956: Note sur la vascularisation de la glande surrénale du coq domestique.

C. R. Ass. Anat. 43, 514-523

LEVIN, A.J., 1986: Adrenal medulla.

In: Mulrow, J.P. (Ed.), The adrenal gland; 1-44, Elsevier, Amsterdam, New York

LUTHER, P., 1982: Lektin und Toxin der Mistel. Aberglaube und moderne Forschung.

Akademie-Verlag, Berlin

NARASIMHAM C. and D.N. KAMAT, 1970: A comparative account on the distribution of mucopolysaccharides in the vertebrate adrenal medulla.

Fol. Histochem. Cytochem. 12, 261-268

- MEYER, D.J. and M.M. BURGER, 1976: The chromaffin granule surface. Localization of carbohydrate on the cytoplasmic surface of an intracellular organon.
Biochim. Biophys. Acta 443, 428-436
- MILICI, A. J., K.R. PETERS and G.E. PALADE, 1986: The endothelial pocket. A new structure in fenestrated endothelia.
Cell Tissue Res. 244, 493-499
- MILLAR, T.J. and K. UNSICHER, 1982: Ultrastructure of growthcones formed by isolated rat adrenal medullary cells in vitro after treatment with nerve growth factor.
Dev. Brain Res. 2, 557-582
- MILLER, R.A. and O. RIDDLE, 1942: Cytology of the adrenal cortex of normal pigeons in experimentally induced atrophy and hypertrophy.
Am. J. Anat. 71, 311-341
- MIRELMAN, D., E. GALIN, N. SHARUN and R. LOTAN, 1975: Inhibition of fungal growth by wheat germ agglutinin.
Nature 256, 414-416
- MONSIGNY, M., A.-C. ROCHE, C. SENE, R. MAGET-DANA and F.M. DELMOTTE, 1980: Sugar-lectin interactions: How does wheat-germ agglutinin bind sialoglycoconjugates.
Eur. J. Biochem. 104, 147-153
- MÜLLER, J., 1929: Die Nebennieren von Gallus domesticus und Columba livia domestica.
Zeitschr. Mikr. Anat. Forsch. 17, 309-352

- MURPHY, L.A. and I.J. GOLDSTEIN, 1979: Physical, chemical characterization and carbohydrate-binding activity of the A and B subunits of the *Bandeiraea simplicifolia* isolectins.
Biochemistry 18, 4999-5005
- NICOLSON, G.L., J. BLAUSTEIN and M.E. ETZLER, 1974: Characterization of two plant lectins from *Ricinus communis* and their quantitative interaction with a murine lymphoma.
Biochemistry, 13, 196-204
- PEARCE, R.B., J. CRONSHAW and W.N. HOLMES, 1977: The fine structure of the interrenal cells of the duck with evidence for the possible exocytotic release of steroids.
Cell Tissue Res. 183, 203-220
- PEARCE, R.B., J. CRONSHAW and W.N. HOLMES, 1978: Evidence for the zonation of interrenal tissue in the adrenal gland of the duck.
Cell Tissue Res. 192, 363-379
- PLENDL, J. und W. SCHMAHL, 1986: Die spezifische Darstellbarkeit von Blutgefäßen der NMRI-Maus während der Organogenese mit Dolichos bifloros Agglutinin.
GSF-Bericht 17/86; Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, München-Neuherberg
- PRICE, H.C. and R.K. Yu, 1976: Adrenal medulla gangliosides. A comparative study of some mammals.
Comp. Biochem. Physiol. 54 B, 451-454

PROKOP, O., D. SCHLESINGER und A. RACKWITZ, 1965: Über eine thermostabile "antibody like substance" (Anti A_{Hel}) bei *Helix pomatia* und deren Herkunft.

Z. Immun.-Forsch. 129, 402-412

RAY, I. and A. GHOSH, 1961: The chemical cytology of the adrenal medulla in the domestic pigeon.

Acta Histochem. 11, 68-77

REGOECZI, E., M.W.G. HATTON and P.A. CHARLWOOD, 1975: Carbohydrate-mediated elimination of avian plasmaglycoproteins in mammals.

Nature 254, 690-699

RENKONEN, K.O., 1948: Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of leguminosae.

Ann. Med. Exp. Fenn. 26, 66-72

ROMEIS, B., 1948: Mikroskopische Technik.

Oldenbourg Verlag, München

ROMEIS, B., 1968: Mikroskopische Technik

Oldenbourg Verlag, München

ROTH, J., 1978: The lectins. Molecular probes in cell biology and membrane research.

Gustav Fischer Verlag, Jena

SHERIDAN, M.N., D.W. BELT and F.A. HARTMAN, 1963: The fine structure of the interrenal cells of the brown pelican.

Acta Anat. 53, 55-65

- SINGH, I., 1964: A modification of the Masson Hamperl method for staining of argentaffin cells.
Anat. Anz. 115, 81-82
- SINHA, D. and A. GHOSH, 1961: Some aspects of adrenocortical cytochemistry in the domestic pigeon.
Endokrinologie 40, 270-280
- SINOWATZ, F., A.E. FRIESS und W. AMSELGRUBER, 1987: Cytochemischer Nachweis von Lektinbindungsstellen an epididymalen Spermien.
Acta Histochem. (in Druck)
- SITARAMAN, S., 1964: β -metachromasia of the chromaffin tissue of chick adrenal.
J. Histochem. Cytochem. 12, 852-853
- SITARAMAN, S. and A. GHOSH, 1974: Probable role of ascorbic acid in methylation mechanism of adrenomedullary hormones in the pigeon.
Endokrinologie 63, 259-262
- SIVARAM, S., 1965a: Structure and development of the adrenal gland of *Gallus domesticus*.
Canad. J. Zool. 43, 1021-1031
- SIVARAM, S., 1968: Histochemical studies on the developing adrenal gland of *Gallus domesticus*.
Histochemie 12, 316-325

- SOLCIA, E., G. VASALLO and C. CAPELLA, 1968: Selective staining of endocrine cells by basic dyes after acid hydrolysis.
Stain Technol. 43, 257-263
- STILLMARK, H., 1888: Über Ricin, ein giftiges Ferment aus dem Samen von *Ricinus communis* und einigen anderen Euphorbiaceae.
Inaug. Diss., Dorpat
- TAKAMINE, J., 1901: Adrenalin, the active principle of the suprarenal glands and its mode of preparation.
Am. J. Pharmacy 73, 523-531
- TARTAKOFF, A.M. and P. VASSALLI, 1983: Lectin binding sites as markers of golgi subcompartments: Proximal to distal maturation of oligosaccharides.
J. Cell Biol. 97/4, 1243-1248
- TRIFARO, J.M., A.C. DUERS and J.E.B. PINTO, 1976: Membranes of the adrenal medulla: A comparison between the membranes of the golgi apparatus and chromaffin granules.
Mol. Pharmacol. 12, 536-545
- UHLENBRUCK, G., I. PARDOE and G.W.G. BIRD, 1969: On the specificity of lectins with a broad agglutination spectrum.
Z. Immunitätsforsch., Allerg., Klin., Immunol. 138, 488-495
- UNSICKER, K., 1973a: Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. I. Fine structure of adrenal chromaffin cells and ganglion cells.
Z. Zellforsch. 145, 389-416

- UNSICKER, K., 1973b: Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. II. Cholinergic innervation of adrenal chromaffin cells.
Z. Zellforsch. 145, 417-442
- UNSICKER, K., 1973c: Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. III. Non-cholinergic nerve fibers.
Z. Zellforsch. 145, 557-575
- UNSICKER, K., 1973d: Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. IV. Fine structure of interrenal cells.
Z. Zellforsch. 146, 385-402
- UNSICKER, K., 1973e: Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. V. Innervation of interrenal cells.
Z. Zellforsch. 146, 403-416
- UNSICKER, K. and H.D. HOFMANN, 1983: Phenotypic plasticity of cultured bovine chromaffin cells. 1. Morphological changes induced by non chromaffin cells and organ extracts, but not by mouse and bovine nerve growth factor.
Dev. Brain Res. 7, 41- 52
- VARVELLA, F., G. BUDETTA and M. e LANGELLA, 1983: Blood supply of the adrenal gland in the domestic duck.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 59 (6), 737-743

- VENZKE, W.G., 1953: The morphogenesis of the adrenal glands of chicken embryos
Am. J. Vet. Res. 14, 219-229
- VULPIAN, A., 1856: Quelques reactions propres a' la substance des capsules surrenales.
C. R. Acad. Sci. 43, 633 (Zit. nach Bennett)
- WALLACE, E.F., M.J. KRANTZ and W. LOVENBERG, 1973: Dopamine β -hydroxylase: A tetrameric glycoprotein.
Proc. Nat. Acad. Sci. 70, 2253-2255
- WASSERMANN, G.F. and E.A. BERNARD, 1971: The influence of corticoids on the phenylethanolamine-N-methyl transferase of the adrenal glands of *Gallus domesticus*.
Gen. Comp. Endocrinol. 17, 83-93
- WATKINS, N.W. and W.T.J. MORGAN, 1952: Neutralization of the anti-H agglutinin in eel serum by simple sugars.
Nature 169, 825-826
- WOOD, C., E.A. KABAT, S. EBISER and I.J. GOLDSTEIN, 1978: An immunochemical study of the combining sites of the second lectin isolated from *Bandeiraea simplicifolia* (BS II).
Ann. Immunol. 129 C, 143-158
- WURTMAN, R.J. and L. A. POHOREKY, 1971: Adrenocortical control of epinephrine synthesis in health and disease.
Adv. Metab. Disord. 5, 53-76

ZACHARIASEN, R.D. and W.S. NEWCOMER, 1974: Phenylethanolamine-N-methyl transferase activity in the avian adrenal following immobilization or adrenocorticotropin.

Gen. Comp. Endocrinol. 23, 193-199

Herrn Prof. Dr. F. Sinowatz danke ich für die Überlassung des Themas, für seine jederzeit gewährleistete, engagierte Unterstützung und für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Für die wissenschaftliche Unterstützung danke ich dem akademischen Rat Herrn Dr. med. vet. W. Amselgruber.

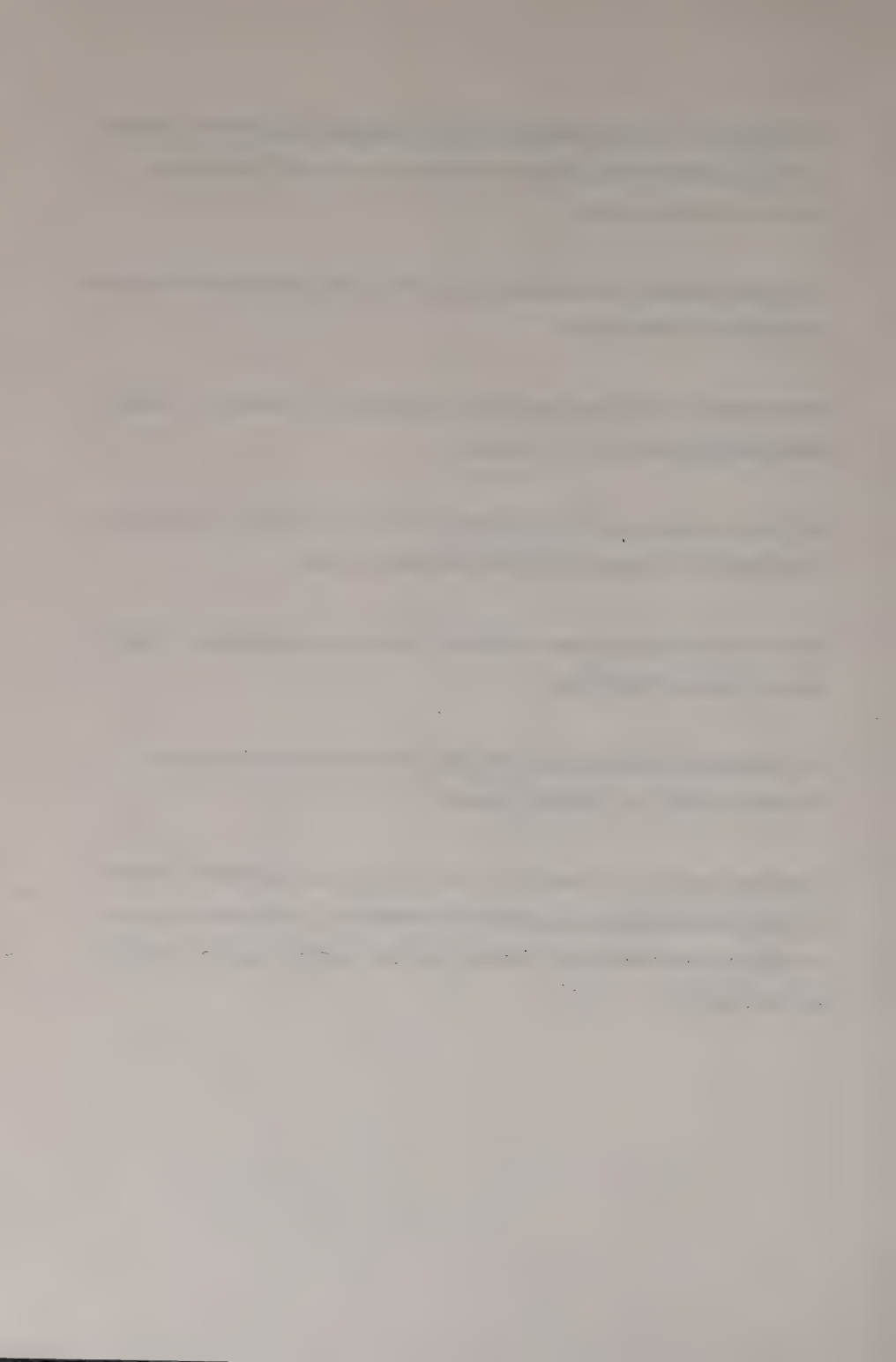
Ebenso möchte ich mich bei dem akademischen Oberrat Dr. med. vet. F. Feder für seine Beiträge zu dieser Arbeit bedanken.

Bei den technischen Arbeiten unterstützten mich Frau Roming, Frau Münster und Frau Rußmeier in dankenswerter und zuverlässiger Weise.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Kosarian, der mir bei den praktischen Problemen hilfreich zur Seite stand.

Allen anderen Mitarbeitern des Institutes, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sei ebenfalls gedankt.

Außerdem gebührt mein besonderer Dank Herrn Oberfeldveterinär Dr. Malcharek von der Veterinäruntersuchungsstelle der Bundeswehr in München, der es mir ermöglichte, während meiner Dienstzeit mit den Vorbereitungen für diese Arbeit zu beginnen.



Lebenslauf

Am 2. März 1960 wurde ich, Martin Wilhelm Schweizer, als zweites von sechs Kindern meiner Eltern Dr. Fritz Schweizer und Doris Schweizer, geborene Lehr, in Feuchtwangen, Bayern, geboren.

Mein Vater ist als Fachtierarzt für Rinder und für Zuchthygiene und Besamung in Feuchtwangen als praktizierender Tierarzt niedergelassen.

Meine Mutter ist als Hausfrau tätig.

Von September 1966 – 1969 besuchte ich die Volksschule der Stadt Feuchtwangen. Im September 1969 wechselte ich auf das Johann Georg von Soldner Gymnasium der Gesamtschule Feuchtwangen.

Ab September 1976 ging ich zum Besuch der Oberstufe auf das Gymnasium Dinkelsbühl, wo ich im Juni 1979 meine Schulzeit mit dem Abitur abschloß.

Danach bewarb ich mich für das Studium der Tiermedizin, das ich im Herbst 1979 an der Tierärztlichen Fakultät der LMU München begann.

Am 17. Januar 1985 bestand ich die Tierärztliche Prüfung und im März 1985 erhielt ich die Approbation.

In der Zeit vom 1.4.1985 bis 30.6.1986 leistete ich meinen Wehrdienst bei der Bundeswehr ab.



